

TESIS DOCTORAL

DETECCIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN EL CÁNCER EPIDERMÓIDE DE OROFARINGE: PREVALENCIA Y VALOR PRONÓSTICO

Doctorando: Olga Liñán Díaz

Directora: Dra. Laura Cerezo Padellano

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO - CÁNCER DE OROFARINGE



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
Facultad de Medicina
Departamento de Medicina y Cirugía

Madrid 2017

*A mi familia, en especial, a mi madre.
Por tu entrega y sacrificios.... sé que estás conmigo.*

*A Nelson, compañero de viaje... sé que puedo contar contigo.
A Marco y Samuel , nuestros hijos.
Gracias por llenar mi corazón de alegría cada día.*

AGRADECIMIENTOS:

A la Doctora Laura Cerezo, por el trabajo de dirigir esta tesis.

A la Doctora Margarita Martin, por su amistad y apoyo.

*Al servicio de Oncología Radioterápica del Hospital Universitario
De La Princesa, por el tiempo compartido durante mi residencia.*

*Al servicio de Oncología Radioterápica del Complejo Hospitalario
de Jaén por el apoyo recibido en la última etapa de este largo camino.*

*Al servicio de estadística de FIBAO (Fundación para Investigación
Biosanitaria de Andalucía Oriental) por su colaboración.*

*A la Fundación Mutua Madrileña, porque este trabajo se ha
realizado, en parte, gracias a la Beca otorgada en 2010.*

REFERENCIA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS:

ACIP: Advisory Committee on Immunization Practices
ACS: American Cancer Society
AJCC: American Join Committee on Cancer Stagin System
ASCO: American Society of Clinical Oncology
CDC: Center for Disease Central
CDK: Quinasas Dependientes de Ciclinas
CTU: Clinical Target Volume
EGF: Factor de Crecimiento Epidérmico
EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico
FDA: Food and Drug Administration
HPV: Virus del Papiloma Humano
HR: Hazard Radio
IARC: International Agency for Research in Cancer
ICTV: Comité Internacional de la Taxonomía de Virus
IMRT: Radioterapia de Intensidad Modulada
INHANCE: The International Head and Neck Cancer Epidemiology Canceration
ISH: Hibridación in situ
LCR: Long Central Region
NCCN: National Comprehensive Cancer Network
PAAF: Punción-aspiración con aguja fina
PCR: Reacción en cadena de la Polimerasa
QT: Quimioterapia
RNM: Resonancia Nuclear Magnética
RT: Radioterapia
SEER: Surveillance Epidemiology and End Results
TAC: Tomografía Axial Computarizada
TLM: Microcirugía Transoral con Láser
TORS: Cirugía Robótica Transoral
URR: Upsteram Regulatory Region
WHO: World Health Organization

Tabla de Contenidos

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1. EPIDEMIOLOGÍA	5
A) Epidemiología y factores de riesgo de los tumores de Cabeza y Cuello.....	5
B) Epidemiología de los tumores de orofaringe HPV+	9
2. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO	16
A) Biología del HPV	16
B) Taxonomía del virus.....	18
C) Patogénesis	19
D) Mecanismos de transmisión	22
E) Métodos de detección del virus	24
3. PRESENTACIÓN CLÍNICA	31
4. CLASIFICACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA	32
5. DIAGNÓSTICO	33
6. ESTADIFICACIÓN DE LOS TUMORES DE OROFARINGE	35
7. ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EN LOS TUMORES DE OROFARINGE	37
A) Tratamiento de estadios iniciales	37
B) Tratamiento de estadios localmente avanzados.	38
C) Manejo del cuello	47
8. PRONÓSTICO	49
9. SEGUIMIENTO.....	52
II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	55
III. OBJETIVOS.....	59
1. OBJETIVOS PRIMARIOS	61
2. OBJETIVOS SECUNDARIOS	61
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	63
1. DISEÑO DEL ESTUDIO	65
A) Diseño.....	65
B) Ámbito de estudio	65
2. POBLACIÓN A ESTUDIO	66
A) Procedimiento para la inclusión de pacientes	66
B) Criterios de inclusión	66
C) Criterios de exclusión.....	66
3. VARIABLES DEL ESTUDIO	67

A) Variables independientes.....	67
B) Variables dependientes.....	68
4. PLAN DE TRABAJO	69
A) Reclutamiento de los pacientes y creación de una base de datos.....	69
B) Preparación de las muestras histológicas	69
C) Estudio de p16 mediante inmunohistoquímica	69
D) Seguimiento.....	70
E) Análisis estadístico	70
V. RESULTADOS	73
1. DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA	75
2. DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA POR HPV POSITIVO	84
3. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA DE LA MUESTRA.....	96
A) Supervivencia Global	96
B) Supervivencia Libre de Enfermedad	96
C) Supervivencia Libre de Progresión	97
D) Control Loco-regional	98
4. ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LA SUPERVIVENCIA.....	99
5. ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE LA SUPERVIVENCIA.	120
VI. DISCUSIÓN	123
1. PREVALENCIA DE LOS TUMORES HPV+	125
2. EPIDEMIOLOGIA	133
3. INFLUENCIA DEL TABACO EN EL PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES HPV+.....	136
4. MÉTODO DE DETECCIÓN DE LA INFECCIÓN	141
5. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA	142
6. GRUPOS DE RIESGO	146
7. DESINTENSIFICACIÓN DE TRATAMIENTOS	154
VII. CONCLUSIONES	157
VIII. TABLAS Y ANEXOS	161
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	165

I. INTRODUCCIÓN

Los tumores de Cabeza y Cuello son un grupo muy heterogéneo de neoplasias, que incluyen tumores de distintas localizaciones (cavidad oral, faringe, laringe, cavidad nasal, senos paranasales, glándula tiroides y glándulas salivares), histología, epidemiología, clínica, estadiaje y manejo terapéutico.

Recordemos que la faringe a su vez se divide en nasofaringe, orofaringe e hipofaringe (Figura 1).

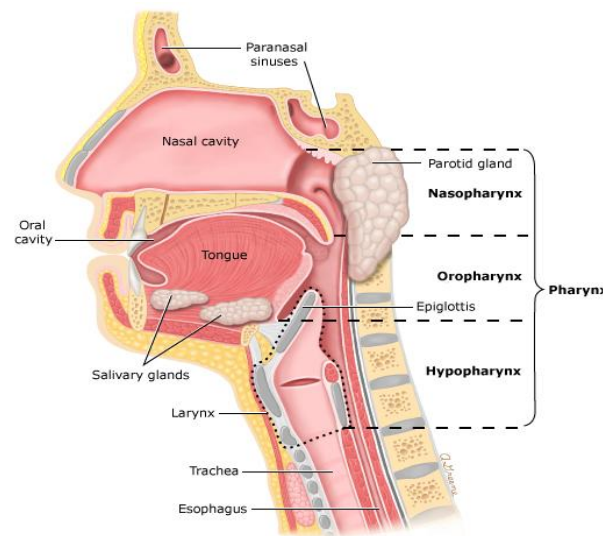


Figura 1: Anatomía de la Faringe

La orofaringe está delimitada por :

- superior: parte inferior del paladar blando y úvula.
- inferior: la superficie superior del hueso hioides.
- anterior: base de la lengua.
- posterior: pared faríngea posterior.
- laterales: pilares amigdalinos y amígdalas faríngeas.

De este modo se incluyen como tumores de orofaringe aquellos tumores originados en el paladar blando, amígdala, fosa amigdalina, pilares amigdalinos, base de la lengua, pared faríngea posterior y vallécula glosopiglótica.

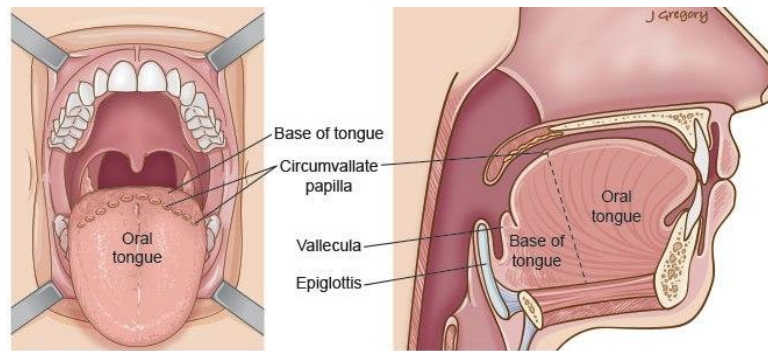


Figura 2: Anatomía de la orofaringe

1. EPIDEMIOLOGÍA

A) Epidemiología y factores de riesgo de los tumores de Cabeza y Cuello

Actualmente, los tumores de Cabeza y Cuello suponen la quinta localización más frecuente de tumores no cutáneos a nivel mundial, con una incidencia anual de 600.000 casos y 60.000 muerte/año ¹.

Dentro de los tumores de Cabeza y Cuello, la incidencia anual de tumores de orofaringe es de 85.000 casos ².

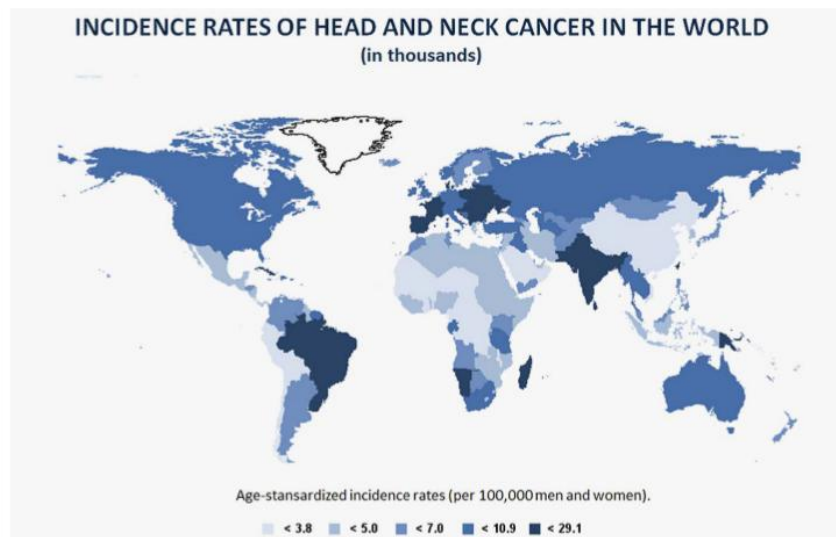


Figura 3: Incidencia (por 100.000 hab) de tumores de Cabeza y Cuello mundial en 2008. Tomada de Gillison et al ³.

La mayor incidencia de tumores en cavidad oral y orofaringe se registra en Pakistán, India, Francia, Eslovaquia y Brasil; de tumores de hipofaringe en Francia, India y Eslovaquia y de tumores de laringe se registra en España, Italia y Polonia ⁴.

Este tipo de tumores son 3 veces más frecuentes en hombres, en raza negra y su incidencia aumenta con la edad, siendo más frecuentes en la 6º-7º década de la vida ^{5 6}.

Estudios epidemiológicos han demostrado un descenso en la incidencia de tumores de Cabeza y Cuello desde 1980⁷. Este descenso se ha asociado a un descenso paralelo en el consumo de tabaco, principal factor de riesgo de este tipo de tumores.

Paradójicamente, la incidencia de tumores de orofaringe se ha ido incrementando en las últimas décadas. Según los datos obtenidos de la base de datos poblacional SEER, en EEUU la incidencia anual de cáncer de base de lengua y amígdala en población entre 20 y 44 años se ha ido incrementando de forma progresiva entre los años 1973 y 2001, mientras que en otras zonas de la faringe y cavidad oral se mantuvieron estables o incluso disminuyeron.⁸

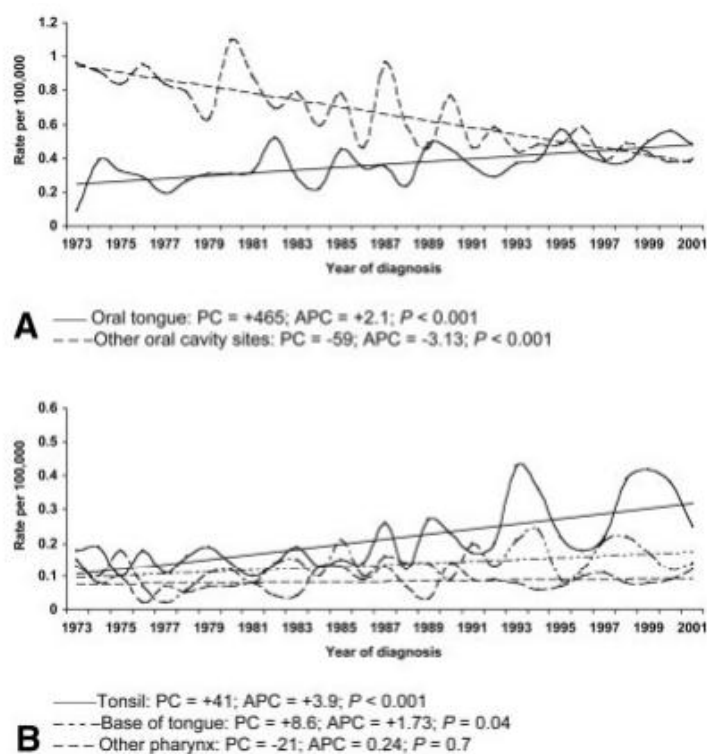


Figura 4: Incidencia anual de cáncer de amígdala, base de lengua y otras sublocalizaciones de faringe entre los años 1973-2001 (Tomada de Shiboski et al⁸)

Estudios recientes sugieren que el carcinoma de orofaringe Virus del Papiloma Humano (HPV) positivo constituye una entidad distinta, presentándose en individuos más jóvenes y con extensión más avanzada de la enfermedad, pero con mejor pronóstico y mayor respuesta al tratamiento con radioterapia, con o sin quimioterapia^{9 10 11 12}.

Factores de riesgo de tumores de Cabeza y Cuello:

Tabaco.

Según la literatura, el consumo de tabaco está presente en el 80% de casos de tumores de Cabeza y Cuello ¹³. Los fumadores (tanto de cigarros como de pipa) tienen un riesgo relativo de sufrir esta patología entre 5 y 25 veces mayor en comparación con los no fumadores, dependiendo de la dosis y del tiempo de exposición ^{14 15}. Numerosos estudios avalan estos datos. Por ejemplo: un estudio casos-contrroles comparó 605 pacientes con tumor de Cabeza y Cuello con 756 controles. El riesgo relativo en fumadores fue 6.5. El riesgo relativo se incrementó con el tiempo de exposición y se redujo con el abandono del hábito tabáquico, siendo similar a los de no fumadores a los 20 años ¹⁶.

Todas las formas de tabaco (cigarrillos, puros, pipa, esnifado y de mascar) son carcinógenas y pueden causar neoplasias a nivel de la mucosa del tracto respiratorio superior. El tabaco produce nitrosaminas tales como: N- nitrosamina específica del tabaco (TSNA), N'-nitrosonornicotina (NNN) y 4(metilnitrosamino)-1-(3- piridil)-1-butanona (NNK) y radicales libres que bloquean a las enzimas antioxidantes ¹⁷.

Alcohol.

El alcohol incrementa el riesgo de tumor de Cabeza y Cuello, independientemente del consumo de tabaco aunque, epidemiológicamente, suelen ir unidos y tienen un efecto sinérgico. El efecto oncogénico también es dosis dependiente, presentándose con mayor frecuencia en consumidores moderados-severos, es decir, consumidores de más de 50gr/día. Hay evidencias de que puede haber una predisposición genética en aquellos pacientes portadores de un polimorfismo genético de las enzimas Alcohol deshidrogenasa y Aldehído deshidrogenasa ¹⁸.

Infecciones virales.

Hay asociaciones entre distintas infecciones virales y tumores de Cabeza y Cuello. Por ejemplo: Virus Epstein-Barr con carcinomas de nasofaringe ¹⁹; Virus de

Herpes Simple con carcinomas de cavidad oral ²⁰; VIH con carcinomas de cavidad oral y Linfomas No Hodgkin ²¹.

Exposiciones ocupacionales.

Más evidentes en casos de carcinomas de nasofaringe. Pj Asbesto, pesticidas, gas, etanol, ácido sulfúrico... ²²

Radiación.

Tras haber recibido radiación de forma accidental o terapéutica, pueden desarrollarse tumores de Cabeza y Cuello tras 31-36 años de la exposición ²³.

Otros factores de riesgo.

Dieta rica en carnes con alto contenido en nitritos o pobre en vegetales, fruta o leche; pobre higiene perioral... ¹⁵

B) Epidemiología de los tumores de orofaringe HPV+

En 1975 ²⁴ Newel observó que mujeres con antecedentes de carcinoma de cérvix tenían un riesgo de presentar carcinoma de orofaringe 5-6 veces superior.

En la década de los 80 empezaron a publicarse estudios que evidenciaban la presencia del HPV en los carcinomas de orofaringe.

La implicación del HPV en la carcinogénesis de los tumores de cabeza y cuello fue sugerida por primera vez en 1983 por Syrjänen ²⁵.

En 1985 se identificaron los genotipos 16,11 y 27 como los asociados a los tumores de cavidad oral y orofaringe ²⁶.

En los sucesivos años, estos datos se fueron confirmando con numerosas publicaciones.

En el año 2003 se publicó un estudio multicéntrico llevado a cabo por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer realizado entre 1996 y 1999, en el que participaron cuatro centros españoles (dos en Barcelona, uno en Sevilla y la Escuela de Salud Pública de Granada), en el que se analizaron las muestras de 1670 pacientes de carcinomas de cavidad oral (1415) y de orofaringe (255) con cinco métodos distintos de detección del HPV y concluyen que el HPV juega un papel importante en la etiología de los tumores de orofaringe y en menor proporción en los tumores de cavidad oral ²⁷.

En el año 2005, Kreimer et al ²⁸ publicaron una revisión sistemática en la que recogieron 60 estudios realizados entre 1991 y 2003. La prevalencia de la infección en tumores de Cabeza y Cuello fue del 25.6%, siendo mayor en tumores de orofaringe (35.6%) frente a los tumores de cavidad oral (23.5%) y tumores de laringe (24%). Además también se objetivaron diferencias según el área geográfica, observándose una mayor prevalencia de HPV en carcinomas de orofaringe en Norte América (47%) y Asia (46.3%) frente a Europa (28.2%).

	No. studies	No. cases	Overall HPV prevalence (95% CI)	HPV16 prevalence (95% CI)
Oral cavity				
Europe	15	744	16.0 (13.4-18.8)	10.8 (8.6-13.2)
North America	8	577	16.1 (13.2-19.4)	10.1 (7.7-12.8)
Asia	13	1,133	33.0 (30.3-35.8)	22.3 (20.3-25.2)
Other*	2	188	18.1 (12.9-24.3)	14.9 (10.1-20.8)
Oropharynx				
Europe	17	529	28.2 (24.4-32.2)	23.8 (20.2-27.7)
North America	7	285	47.0 (41.1-53.0)	42.1 (36.3-48.1)
Asia	4	54	46.3 (32.6-60.4)	35.2 (22.7-49.4)
Other*	2	101	36.6 (27.3-46.8)	33.7 (24.6-43.8)
Larynx†				
Europe	19	799	21.3 (18.5-24.3)	13.8 (11.5-16.4)
North America	7	297	13.8 (10.1-18.3)	10.1 (7.0-14.1)
Asia	8	306	38.2 (32.8-43.9)	26.5 (21.6-31.8)
Other*	1	33	48.5 (30.8-66.5)	45.5 (28.1-63.6)

*Includes Central and South America, Australia, and Africa.

†Larynx includes cases of the hypopharynx.

Figura 5: Prevalencia de la infección por HPV por localización anatómica y geográfica (Tomada de Kreimer et al ²⁸)

En el año 2007, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), incluyó como agente causal de los carcinomas de orofaringe al HPV ²⁹.

En el año 2008 se le concedió el premio Nobel en Medicina al Dr. Harald zur Hausen por sus investigaciones relacionadas con el mecanismo de la carcinogénesis producida por el HPV, los factores predisponentes, la persistencia viral y la transformación celular.

También en 2008, Termine et al ³⁰, publicaron una meta-análisis donde se recogieron 62 estudios realizados entre 1988 y 2007. La prevalencia de la infección por HPV en tumores de orofaringe fue del 38.1%.

En el año 2010 se publicó uno de los estudios de prevalencia y pronóstico de tumores de orofaringe HPV + más importantes, realizado por Kian Ang et al ⁵ en EEUU. El 63.8% de pacientes presentaban un tumor HPV +.

Una de las revisiones más extensas realizada hasta el momento es la publicada por Mehanna et al ³¹. Se recogieron 269 estudios realizados entre los años 1970 y 2010, incluyendo un total de 19368 pacientes. Según sus resultados, la prevalencia agrupada global de tumores de orofaringe HPV+ fue de 47.7% (IC 95%: 42.9-52.5%).

El porcentaje de positividad fue incrementándose de forma significativa a lo largo del tiempo (ver Figura 6, 7 y 8):

- estudios con pacientes reclutados antes del año 2000 (n=54): 40.5%
- estudios con pacientes reclutados entre 2000-2004 (n=22): 64.3%
- estudios con pacientes reclutados a partir de 2005 (n=4): 72.2%

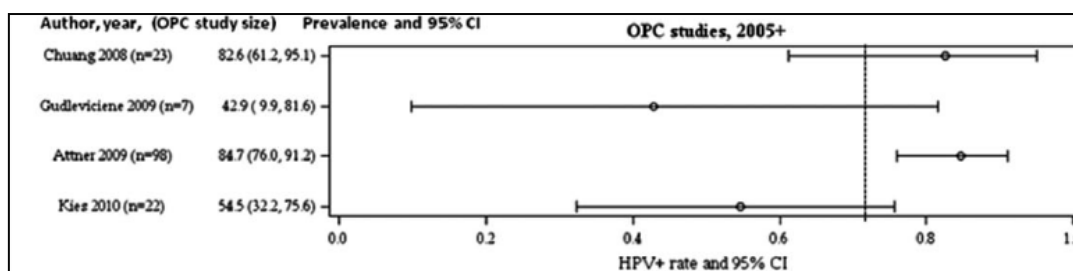


Figura 6: estudios realizados con pacientes reclutados a partir de 2005
(Tomada de Mehanna et al ³¹)

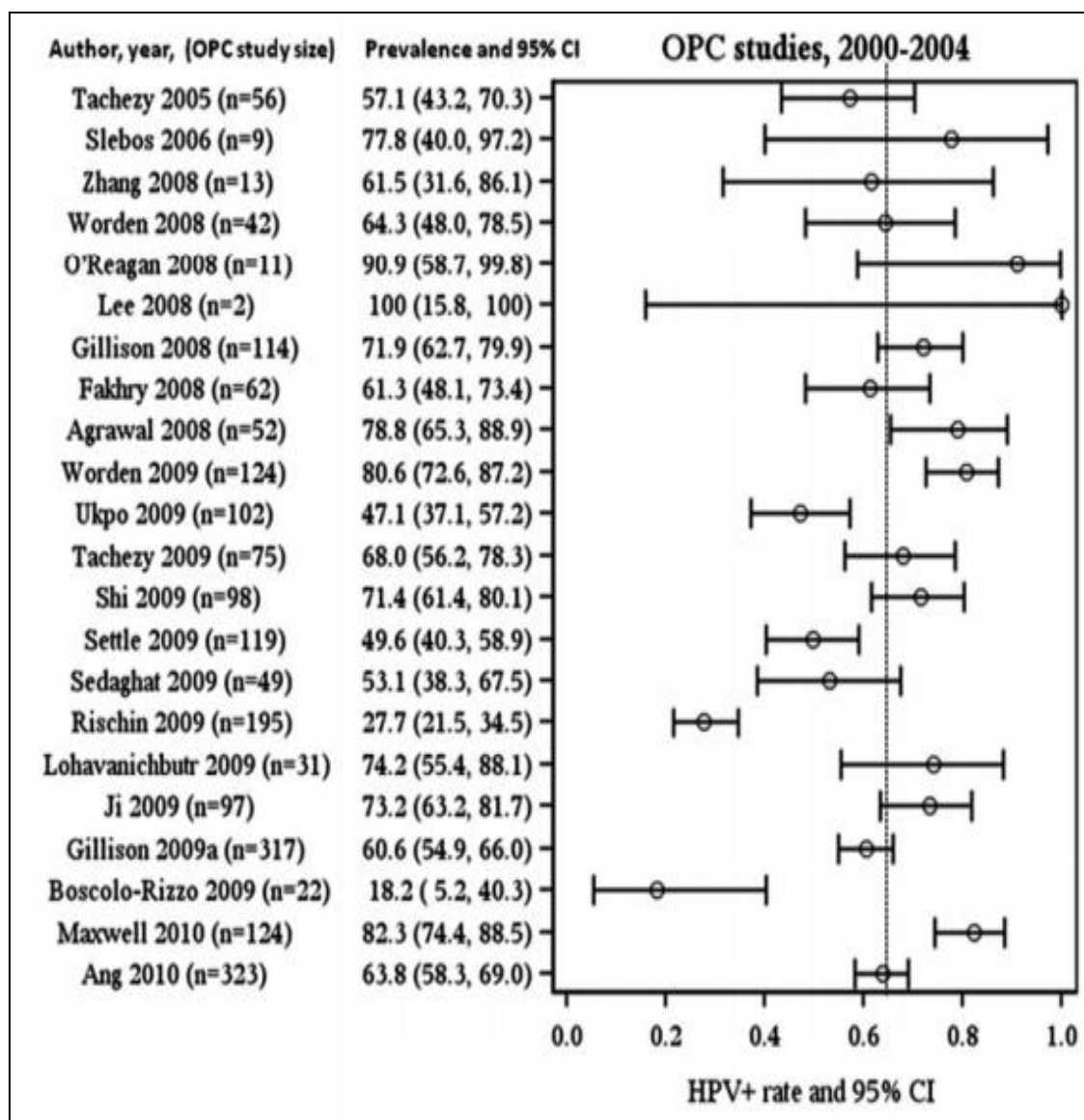


Figura 7: estudios realizados con pacientes reclutados entre 2000-2004
(Tomada de Mehanna et al ³¹)

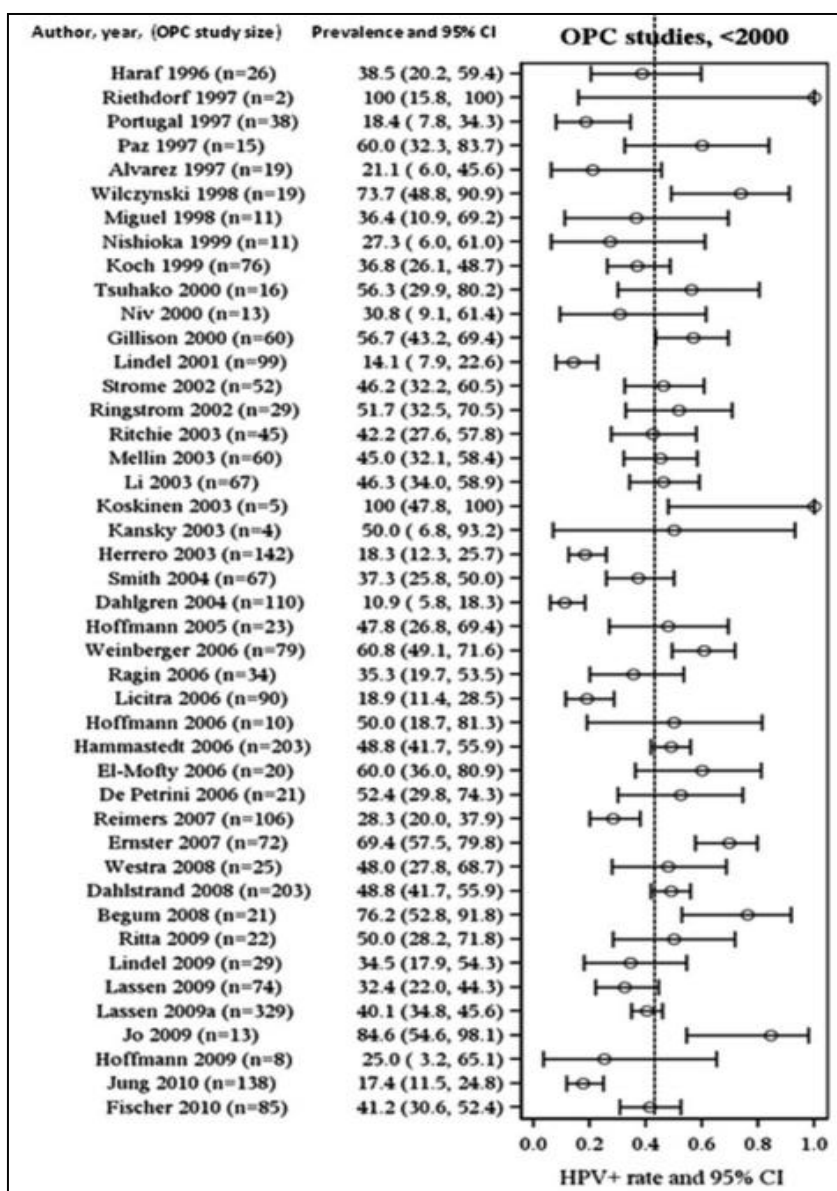


Figura 8: estudios realizados con pacientes reclutados antes del año 2000
(Tomada de Mehanna et al ³¹)

Además, se encontraron diferencias en la prevalencia de los tumores HPV+ según el área geográfica:

- Europa: 39.7%
- Norte América: 59.9%
- Resto de zonas: 32.5%

Group	Overall prevalence (95% CI)	Midyear <2000 (95% CI)	Midyear 2000–2004 (95% CI)	Midyear 2005+ (95% CI)	Midyear NK	p value (midyear trend)	p value (year group trend)
OPC							
All regions	47.7 (42.9, 52.5) S = 102 n = 5396 0.89	40.5 (35.1, 46.1) S = 54 n = 2690 0.82	64.3 (56.7, 71.3) S = 22 n = 2037 0.9	72.2 (52.9, 85.7) S = 4 n = 150 0.8	40.5 (31.1, 50.7) S = 22 n = 519	<.0001	<.0001
N. America	59.9 (54.7, 64.9) S = 43 n = 2550 0.8	50.7 (42.6, 58.7) S = 19 n = 696 0.73	67.6 (61.7, 72.9) S = 17 n = 1678 0.79	69.7 (46.8, 85.7) S = 2 n = 45 0.76	55.6 (41.4, 69.0) S = 5 n = 131	0.0002	0.002
Europe	39.7 (32.8, 47.0) S = 46 n = 2278 0.87	35.3 (28.7, 42.5) S = 27 n = 1704 0.82	59.0 (30.2, 82.7) S = 4 n = 164 0.87	73.1 (39.4, 91.9) S = 2 n = 105 0.87	36.2 (24.3, 50.0) S = 13 n = 305	0.07	0.004

Figura 9: Prevalencia de carcinomas de orofaringe HPV+ por áreas geográficas y años (Tomada de Mehanna et al ³¹)

Pero curiosamente esta diferencia en la prevalencia entre Norte América y Europa que era más marcada en los estudios realizados antes del año 2000 (50.7% vs 35.3%, respectivamente, $p = 0.008$) ha ido desapareciendo en los estudios posteriores (69.7% vs 73.1%, respectivamente, $p = 0.8$).

Dentro de Europa también encontramos diferencias entre los países del norte y los del sur. Así por ejemplo la prevalencia en Suecia es del 93%; en Reino Unido, Francia y Alemania oscila entre el 40-60%; en Holanda 20-30% y en Italia 17% ³².

Y en otras áreas geográficas también la prevalencia es muy variable: Asia 25-50%, América del Sur 4.4% ³², Australia 60% ³³.

En España sólo hay publicado un estudio por Rodrigo et al, en 2014, analizando la prevalencia de tumores de orofaringe HPV+ en Asturias en una muestra recogida entre los años 1990 y 2009, en el cual se obtuvo una prevalencia del 12% ³².

Desde el punto de vista epidemiológico, ya en 2008 Gillison et al ³⁴, hablaba de los tumores de cabeza y cuello HPV+/HPV- como dos entidades distintas.

En la siguiente tabla se resumen las características de ambas entidades:

	HPV+	HPV-
Edad	Jóvenes	Mayores
Localización anatómica	Amígdalas, base de lengua	Cualquiera
Cofactores	Inmunosupresión	Dieta desequilibrada, falta de higiene
Sexo (hombres:mujeres)	3:1	3:1
Histología	Pobrementemente diferenciados, rasgos basaloides	Moderadamente o bien diferenciados
Incidencia	Aumentando	Disminuyendo
Factores de riesgo	Múltiples parejas sexuales	Tabaco y alcohol
Estatus socioeconómico	Alto	Bajo
Supervivencia	Alta	Baja

La infección por HPV está asociada a la práctica de sexo orogenital y a prácticas sexuales de alto riesgo con múltiples parejas simultáneamente ³⁵. Como factores de riesgo para las neoplasias HPV positivas se consideran ³⁶:

- la primera relación sexual a edad temprana (<18 años)
- promiscuidad
- historia de verrugas genitales en los varones
- múltiples parejas sexuales en las mujeres

2. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

A) Biología del HPV

El HPV es un virus DNA. Pertenece a la familia *Papillomaviridae*³⁷. Es un virus sin cubierta, de 50 a 55 nm de diámetro, con una cápside proteinácea icosaédrica formada por 72 capsómeros, de 2nm de espesor.

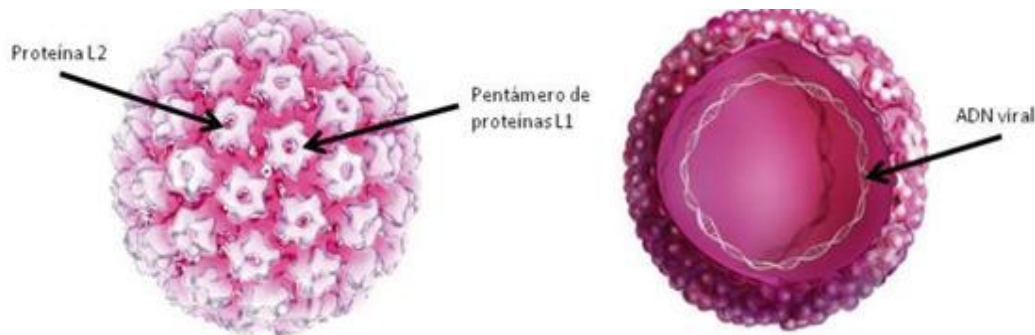


Figura 10: Estructura viral

Contiene un ADN circular bicatenario con 7900 pares de bases aproximadamente, cerrado de forma covalente.

Su genoma se divide en^{38 39}:

- una región temprana (E de *early*): codifica 6 proteínas (E6, E7, E1, E2, E4 y E5)
- una región tardía (L de *late*): codifica 2 proteínas (L1 y L2)
- una región larga de control (LCR de *long control region* o URR de *upstream regulatory region*): es una región adyacente a la E6, que no codifica ninguna proteína pero contiene promotores que regulan la transcripción y replicación génica viral.

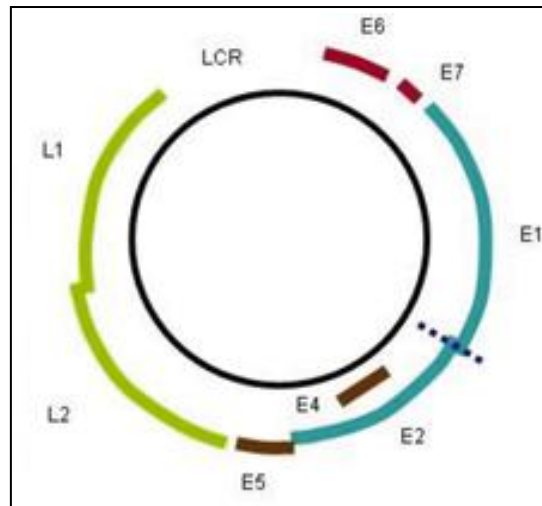


Figura 11: genoma viral

Las proteínas L1 y L2 son proteínas constituyentes de la cápside: L1 (95%) se une a partículas virus-like o viriones y posee epítomos de conformación reconocibles por el sistema antigénico, activando la respuesta inmune celular y humoral. L2 (5%) participa en la unión a la célula huésped.

Las proteínas tempranas participan en el proceso de replicación y transcripción del genoma:

- E1 y E2: permiten la integración del ADN viral en el ADN de la célula huésped e inician la replicación viral.

- E4 y E5: son proteínas que se localizan en el citoplasma y participan en la maduración de nuevas partículas virales. La E5 además interactúa con el factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimulando su actividad.

- E6 y E7: obstaculizan el control de la transcripción y el control del ciclo celular de la célula huésped.

B) Taxonomía del virus

La identificación y nomenclatura de los virus de la familia *Papillomaviridae* a nivel de género y especie está regulada por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV), mientras que los niveles inferiores, como los tipos o genotipos, subtipos y variantes son regulados por el Centro de Referencia Internacional del HPV ⁴⁰.

Los virus se clasifican según el grado de identidad de su secuencia de nucleótidos del gen L1. Actualmente hay identificados dentro de la familia *Papillomaviridae* 39 géneros (que comparten entre el 50-60% de su identidad); éstos a su vez se clasifican en *especies* (que comparte entre el 60-70% de su identidad); en *tipos o genotipos* (que comparten el 71-89% de su identidad) y actualmente hay identificados 198 tipos; en *subtipos* (que comparten el 90-95% de su secuencia de nucleótidos) y éstos en *variantes* (que comparten el 95-98% de su secuencia).

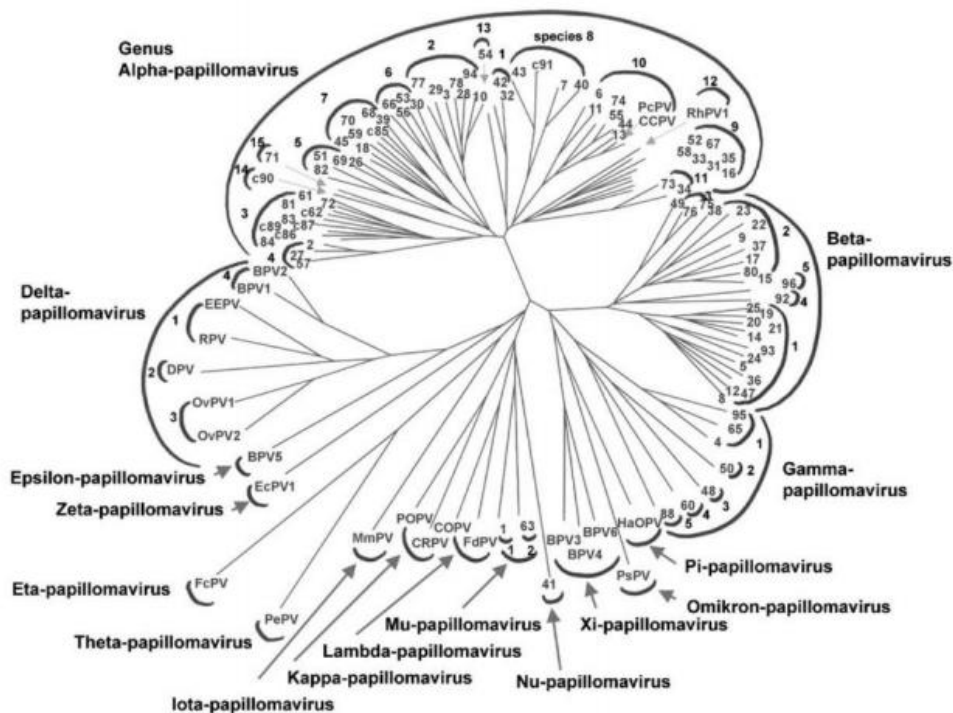


Figura 12: Clasificación de los *Papillomavirus* en géneros, especies y tipos. (Tomada de De Villiers et al ³⁷)

C) Patogénesis

La infección por VPH es una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes. Infecta selectivamente el epitelio de la piel y mucosas. Tiene especial tropismo por los tejidos linfoides, y especialmente por el epitelio que reviste las criptas amigdalares y base de lengua, que forman parte del anillo de Waldeyer (un grupo de tejidos linfoides) ⁴¹. Existen ciertas similitudes con el cérvix uterino, ya que ambos tejidos preceden del endodermo embrionario y son epitelios con muchas invaginaciones, lo cual puede favorecer la captura y procesamiento de antígenos que pueden facilitar el acceso viral a las células basales.

Durante la actividad sexual se producen microtraumas del epitelio, permitiendo la exposición de las células basales y la unión entre el receptor de la célula basal con la proteína de la cápside viral L1 ⁴².

Una vez unido el virus a la superficie celular, se produce su internalización al citoplasma de la célula huésped, proceso que se denomina endocitosis. Dos sistemas han sido reconocidos: el primero involucra un complejo proteico llamado Clatrina ⁴³, utilizado por los tipos 16 y 18; el segundo, utiliza un grupo de proteínas, principalmente Caveolina, denominado endocitosis por caveolas, en el participa por ejemplo el tipo 31 ⁴⁴.

Una vez en el interior del citoplasma de la célula huésped, la cápside viral es degradada a través de un proceso de reducción química que daña los puentes disulfido que la estabilizan, originando capsómeros y monómeros, los cuales son transportados al núcleo junto con fragmentos del ADN viral, atravesando los poros nucleares de un diámetro aproximado a 39 nm. Con ello, el genoma viral y las proteínas de la cápside participarían en los procesos de transcripción génica, replicación del ADN y maduración de los viriones ⁴⁵.

En el proceso de patogénesis juegan un papel fundamental las proteínas E6 y E7:

- **E6**: esta proteína compuesta por 151 aminoácidos, forma un complejo con la proteína p53 y la enzima ubiquitina ligasa, produciendo su degradación⁴⁶. El gen p53 se localiza en el cromosoma 17.

La proteína p53, en condiciones basales, permite detener el ciclo celular en la fase G1 y activar la apoptosis cuando se detectan mutaciones del ADN celular o carga viral elevada. De este modo, su función protectora es alterada por la proteína viral E6.

Otras funciones de esta proteína son la amplificación de la actividad telomerasa, inducir síntesis de ADN mutado y aumentar la integración del ADN viral al de la célula huésped⁴⁷.

-**E7**: esta proteína compuesta por 98 aminoácidos, se une a la proteína del retinoblastoma (pRB).

La pRB se origina del gen localizado en el cromosoma 13; interacciona con el factor de transcripción celular E2F en la fase G1 del ciclo celular, inhibiendo la expresión de genes relacionados con la replicación del ADN y proliferación celular⁴⁷. De esta forma, la unión de la proteína viral E7 con la pRB, impide la formación del complejo pRB-E2F, y se permite la expresión de timidina kinasa, c-myc, polimerasa α , Ki-67, proteína de mantención de minicromosomas (MCM), p16, ciclina A y ciclina E⁴⁸.

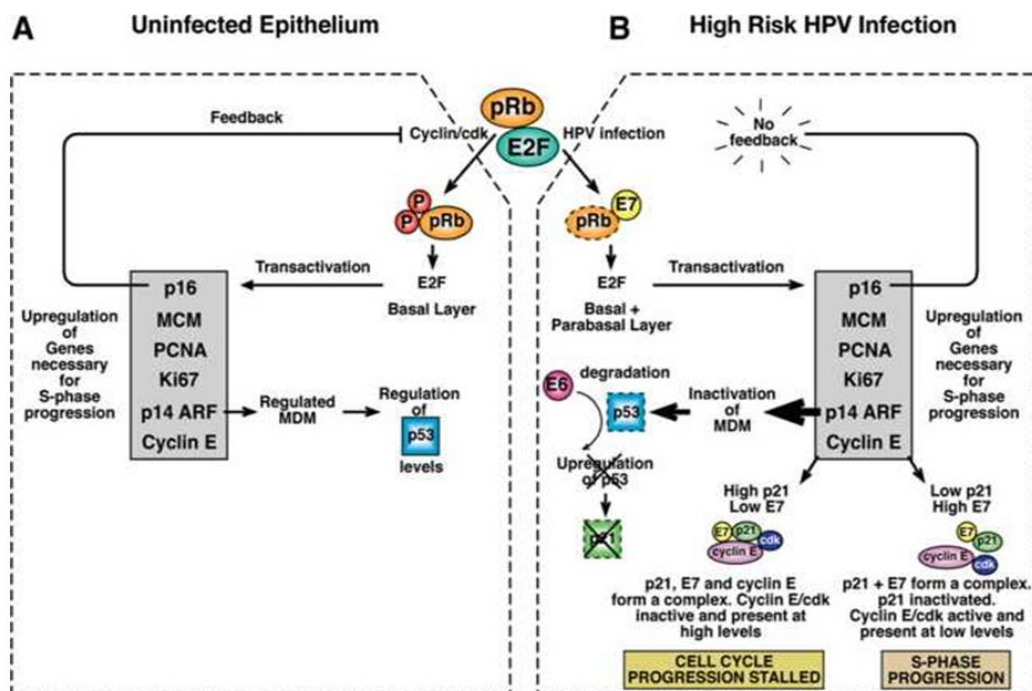


Figura 13: Regulación del ciclo celular en una célula no infectada (A) y en una célula infectada por el HPV (B) (Tomada de Doorbar et al ⁴⁹)

Estas infecciones pueden ser asintomáticas, producir verrugas o condilomas, o asociarse a neoplasias benignas y malignas (de cérvix, vagina, vulva, periné, región anal, cavidad oral y orofaringe). Por este motivo los distintos tipos de HPV han sido agrupados en dos grandes grupos, «Bajo Riesgo» y «Alto Riesgo» oncogénico, siendo más frecuentes entre los de Bajo Riesgo los tipos 6 y 11, y entre los de Alto Riesgo los tipos 16 y 18⁵⁰.

Género	Especie	Tipos	Riesgo
<i>Alphapapillomavirus</i>	4	VPH 2, 27 y 57	VPH de bajo riesgo
	5	VPH 26, 51, 69 y 82	VPH de alto riesgo
	6	VPH 30, 53, 56 y 66	VPH de alto riesgo
	7	VPH 18, 39, 45, 59, 68 y 70	VPH de alto y bajo riesgo
	8	VPH 7, 40 y 43	VPH de bajo riesgo
	9	VPH 16, 31, 33, 35, 52, 58 y 67	VPH de alto riesgo
	10	VPH 6, 11, 13, 44 y 74	VPH de bajo riesgo
<i>Betapapillomavirus</i>	1	VPH 5 y 8	VPH de bajo riesgo
<i>Gammapapillomavirus</i>	1	VPH 4 y 65	VPH de bajo riesgo

Figura 14: Tipos de Papillomavirus más frecuentes y su riesgo oncológico
(Tomada de Garcea et al⁵⁰)

D) Mecanismos de transmisión

Existen factores de riesgo para la infección por HPV a nivel genital: relaciones sexuales con penetración sin protección, contacto de piel con piel en un área infectada.. Y probablemente también el contacto digital/anal y digital/vaginal puedan actuar como transmisor de la infección ⁵¹.

Pero en comparación con los extensos datos disponibles de la transmisión del virus a nivel genital por contacto sexual, conocemos poco sobre la transmisión del virus a nivel de las vías aerodigestivas superiores. Por ejemplo: desconocemos el periodo de latencia entre la infección y el desarrollo de la enfermedad (que en el caso de carcinoma de cervix oscila entre 10 y 15 años).

Parece que existe un fenómeno de aclaramiento natural de la infección, definido como la negativización de la infección determinada con el mismo método y para el mismo tipo. Según reflejan algunos estudios más del 93% de las infecciones orales por HPV aclaran a los 2 años ⁵². En estudios americanos, la infección oral en mujeres se había aclarado en el 60% de los casos a los 3 meses ⁵³ y en un estudio finlandés, a los 7 años el aclaramiento fue del 100% ⁵⁴. En mujeres con persistencia de infección cervical por HPV, el tiempo para aclarar la infección oral es de 50 meses frente a los 28.2 meses de mujeres sin infección cervical ⁵⁵

Estudios recientes reflejan que las prácticas sexuales parecen ser las responsables de la transmisión de la infección a la cavidad oral y faringe. Así se recoge en un estudio publicado por “*The International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium*” que agrupa múltiples estudios internacionales, con más de 11000 pacientes ⁴¹, en el que se evidencia que tener antecedentes de 6 o más parejas sexuales o 4 o más parejas de sexo oral está asociado a un riesgo tres veces mayor de desarrollar un cáncer en amígdala. También la edad de la primera relación sexual influye; así, tener relaciones sexuales antes de los 18 años está asociado a un riesgo 2 veces mayor de desarrollar un cáncer en amígdala.

Actualmente no está claro que el HPV se pueda transmitir a cavidad oral a través de un beso o en el canal del parto a niños de madres con infección vaginal ⁵⁶.

También las inmunodeficiencias, ya sean primarias o adquiridas, predisponen a la infección y al desarrollo de patologías malignas ⁵⁷. Así se reflejó en un estudio que reclutó pacientes HIV positivos y HIV negativos; se comprobó que el 34% de los pacientes también estaban infectados por HPV. En los pacientes HIV negativos, el riesgo de infección por HPV se incrementaba con la práctica reciente de sexo oral y con el número de parejas. En los pacientes HIV positivos, se incrementaba con niveles bajos de linfocitos T CD4 y con el número de parejas ⁵⁸.

E) Métodos de detección del virus

Existen distintos métodos para detectar la infección por HPV en una muestra histopatológica de carcinoma. Se clasifican según la técnica y según el objeto a detectar. Entre las dianas a detectar se encuentran:

- ADN o ARN viral
- Oncoproteínas virales: por ejemplo, E6 y E7
- Proteínas celulares o biomarcadores: por ejemplo, proteína p16.

La siguiente figura muestra de forma sintética el proceso de carcinogénesis desencadenado por el HPV: la infección viral, la integración del DNA viral en el DNA de la célula huésped, la transcripción de mRNA E6/E7, la traslación en oncoproteínas virales E6/E7 y la sobreexpresión de la proteína p16⁵⁹.

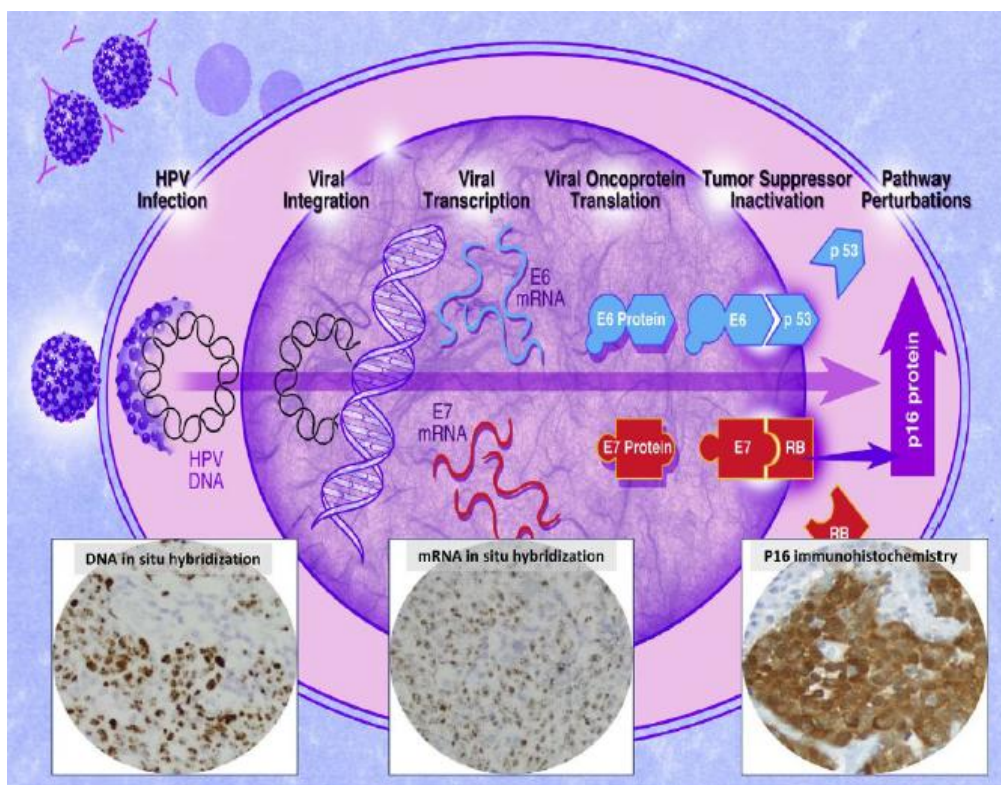


Figura 15: Esquema del proceso carcinogénico promovido por el HPV y técnicas de laboratorio para la detección de estos procesos.

(Tomada de Westra et al⁵⁹)

Así, clasificamos los métodos de detección de la infección por HPV en:

- **Directos:** detección molecular del DNA o mRNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o hibridación in situ (ISH).
- **Indirectos:** biomarcadores proteicos

Directos:

- **Detección del DNA viral con PCR:** la amplificación del ADN viral mediante PCR es capaz de amplificar fragmentos de ADN viral en muestras histológicas con un contenido heterogéneo de tipos celulares. Es una técnica destacada por su alta sensibilidad para detectar la presencia del HPV, pero no permite distinguir si la infección es silente o si existe una transformación maligna de la célula.
- **Detección del mRNA con PCR:** con esta técnica se detecta la presencia de RNA mensajero que codifica las proteínas oncogénicas E6/E7, con lo que se puede determinar si la infección ha desencadenado el proceso oncogénico.
Esta es la prueba más sensible y específica y se considera la prueba *Gold Standard*, pero tiene una limitación: para su realización se requiere muestras frescas o congeladas, pero no parafinadas.
- **Detección del DNA viral por ISH:** la ISH es una técnica de amplificación que utiliza sondas de DNA marcadas complementarias a unas secuencias determinadas del DNA viral. Las ventajas frente a la PCR son:
 - es posible realizar la técnica de forma automatizada, por lo que la técnica se podría estandarizar en todos los laboratorios.
 - se puede realizar en muestras parafinadas.
 - la mejora en el proceso de amplificación ha aportado a esta técnica una mayor sensibilidad.

-se han desarrollado sondas no fluorescentes, con lo que se puede llevar a cabo esta técnica con microscopios convencionales.

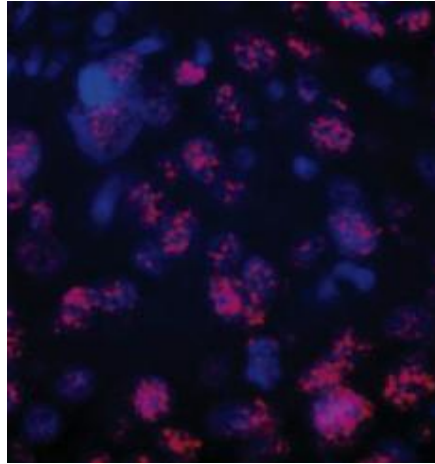


Figura 16: Técnica de ISH con sondas fluorescentes

- **Detección del mRNA por ISH:** con este método es posible la hibridación de mRNA E6/E7 con sondas complementarias. Este método supera en sensibilidad a la determinación de DNA viral por ISH.⁶⁰

Indirectos:

- **Biomarcadores:** proteína p16.

La proteína p16, codificada por el gen supresor CDKN2A (MTS1, INK4A) situado en el cromosoma 9p21, es una proteína que actúa como inhibidor de las quinasas dependientes de ciclinas (cdk), desacelerando el ciclo celular mediante la inactivación de la función de los complejos cdk4- y cdk6-ciclina D. Estos complejos regulan el punto de control de la fase G1 del ciclo celular mediante la fosforilación y la subsiguiente inactivación de la proteína del retinoblastoma (pRb), lo cual libera el factor de transcripción E2F y permite a la célula entrar en la fase S⁶¹.

Y el factor de transcripción E2F a su vez estimula la síntesis de p16 como mecanismo de control del ciclo celular.

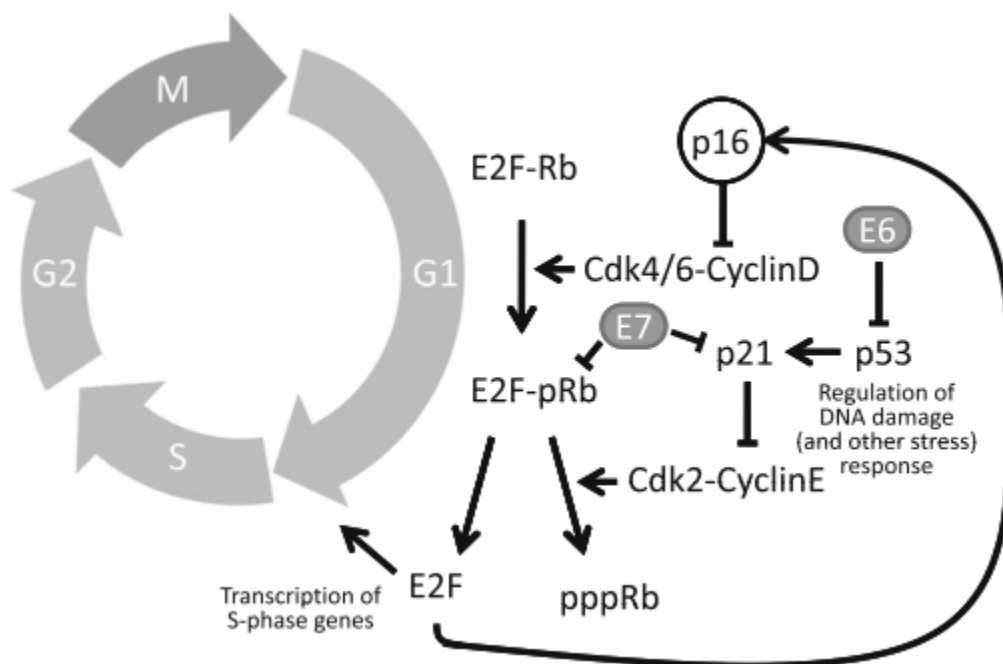


Figura 17: Mecanismo de control del ciclo celular mediado por E2F y la pRB .
(Tomada de Lassen et al ¹⁰)

Además el complejo E2F-Rb actúa inhibiendo la transcripción de varios genes, entre los cuales se encuentra el CDKN2A que codifica la proteína p16. Al romperse el complejo por acción de la E7, se pierde esa inhibición y se produce una sobreexpresión de la proteína p16.

Esta sobreexpresión de p16 es mucho mayor de la esperada por sólo la alteración de pRb, especulándose con que puedan existir otros mecanismos de sobreexpresión mediados por la infección por HPV aún desconocidos.

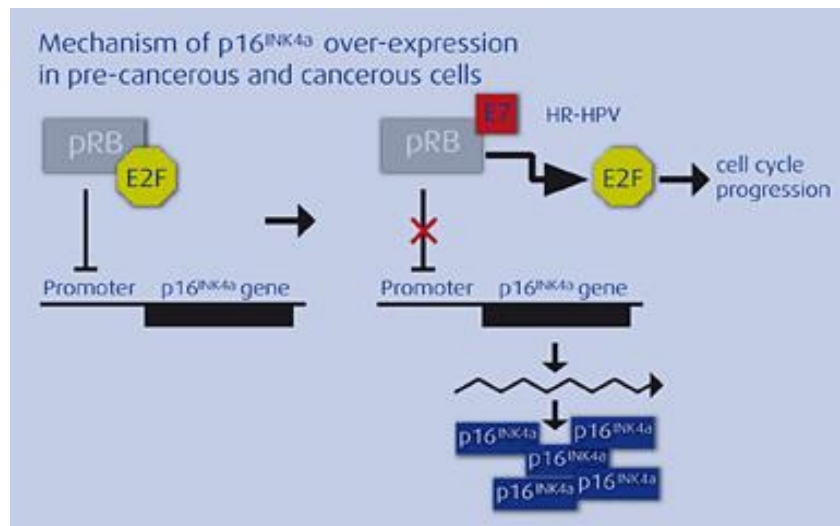


Figura 18: mecanismo de la sobreexpresión de la p16
(Tomada de Lassen et al ⁹)

La sobreexpresión de la proteína p16 se considera un marcador indirecto de infección por HPV. Y con técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) se puede detectar dicha sobreexpresión de una manera simple.

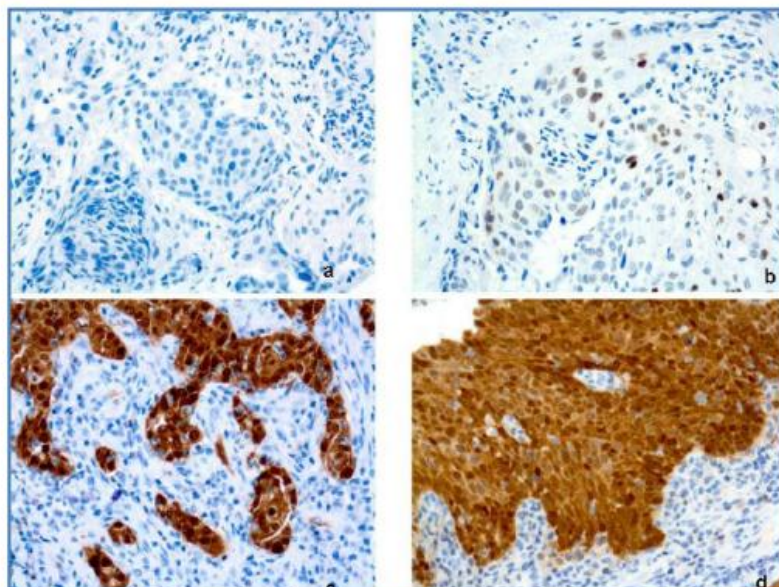


Figura 19: Estado de positividad de la p16. a) Ausencia de tinción. b) Tinción leve. c) Tinción difusa. d) Tinción fuerte
(Tomada de Shibosky et al ⁸)

Pero para que sea útil y fiable esta técnica hay que tener en cuenta algunos aspectos desde el punto de vista histológico y anatómico:

- Para considerar el resultado positivo debe objetivarse una tinción intensa tanto en el núcleo como en el citoplasma en más del 70% de las células tumorales.
- Si la tinción es difusa o débil, la muestra debe ser analizada mediante otro método de detección de la infección por HPV.

Esta técnica es de bajo coste y alta sensibilidad y especificidad; estudios recientes reflejan una sensibilidad de hasta el 96.8% y una especificidad de hasta el 83.8% ⁶².

TABLE 3. p16 IHC/HPV16 ISH Sensitivity Analyses

Test	Gold Standard HPV Test Results [‡]		Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	PPV q (95% CI)	NPV (95% CI)	AUC (95% CI)
	Negative	Positive					
HPV16-type specific p16 IHC (n = 232)							
Negative	62	5	96.6% (92.2-98.9)	72.1% (61.4-81.2)	85.5% (79.1-90.5)	92.5% (83.4-97.5)	0.84 (0.79-0.89)
Positive	24	141					
HPV16 ISH (n = 233)			93.2% (87.8-96.7)	92.0% (84.1-96.7)	95.1% (90.2-98.0)	88.9% (90.5-94.5)	0.93 (0.89-0.96)
Negative	80	10					
Positive	7	136					
IHC/ISH combined (n = 232)							
Both positive*			91.1% (85.3-95.2)	94.2% (87.0-98.1)	96.4% (91.7-98.8)	86.2% (77.5-92.4)	0.93 (0.89-0.96)
Negative	81	13					
Positive	5	133					
Either positive†			98.6% (95.1-99.8)	69.8% (58.9-79.2)	84.7% (78.4-89.8)	96.8% (88.8-99.6)	0.84 (0.79-0.89)
Negative	60	2					
Positive	26	144					
HR-HPV-type specific p16 IHC (n = 232)			96.8% (92.8-99.0)	83.8% (73.4-91.3)	92.7% (87.6-96.2)	92.5% (83.4-97.5)	0.90 (0.86-0.95)
Negative	62	5					
Positive	12	153					
HPV16 ISH (n = 233)			88.0% (81.9-92.6)	94.7% (86.9-98.5)	97.2% (93.0-99.2)	78.9% (69.0-86.8)	0.91 (0.88-0.95)
Negative	71	19					
Positive	4	139					
IHC/ISH combined (n = 232)			86.1% (79.7-91.1)	97.3% (90.6-99.7)	98.6% (94.9-99.8)	76.6% (66.7-84.7)	0.92 (0.88-0.95)
Both positive*							
Negative	72	22					
Positive	2	136					
Either positive†			98.7% (95.5-99.8)	81.1% (70.3-89.3)	91.8% (86.6-95.4)	96.8% (88.8-99.6)	0.90 (0.85-0.94)
Negative	60	2					
Positive	14	156					

*Sensitivity analyses for combined ICH/ISH test results set both positive as a positive test and all others (either 1 or both test negative) as a negative test.

†Sensitivity analyses for combined ICH/ISH test results set either positive as a positive test and both negative as a negative test.

‡The gold standard test for HPV status is defined as either positive for HPV16 E6/E7 expression or for HR-HPV E6/E7 expression (including types 16, 18, 31, 33, 35, and 52).

Figura 20: Análisis de sensibilidad y especificidad de p16 IHC y HPV16 ISH comparado con determinación de mRNA E6/E7 por PCR.
(Tomada de Jordan et al ⁶²)

Aunque la sensibilidad y especificidad de esta técnica son elevadas y por esto se considera un marcador de infección por HPV en carcinomas de orofaringe, no lo es en el caso de otras localizaciones como la cavidad oral, por ejemplo ⁶³. Esto posiblemente esté en relación con el tropismo que tiene el virus por tejidos linfoides, como por ejemplo, la amígdala.

Puede haber algunos tumores, como los basaloides, que también presenten sobreexpresión de p16 sin ser HPV+, pero son poco frecuentes.

3. PRESENTACIÓN CLÍNICA

El principal y más frecuente de los síntomas es el dolor en la región orofaríngea, es decir, odinofagia. Además, en función de la localización pueden aparecer otros síntomas:

- disfagia
- tumoraciones cervicales
- halitosis, si se produce ulceración
- trismus
- otalgia (por compresión del nervio de Jacobson)
- dolor facial
- voz nasal
- ronquidos
- síndrome obstructivo del sueño...

Aunque en la mayoría de los casos la clínica es inespecífica, y es muy importante hacer una buena anamnesis dirigida y completarla con una exhaustiva exploración física.

4. CLASIFICACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA

El tipo histológico más frecuente en los tumores de orofaringe es el carcinoma escamoso o epidermoide (95%). Éstos a su vez se clasifican según el grado de diferenciación celular en:

- Grado 1: bien diferenciados
- Grado 2: moderadamente diferenciados
- Grado 3: indiferenciados.

Pueden ser queratinizantes y no queratinizantes.

En el caso de tumores HPV+, suelen ser no queratinizantes. Además, a nivel citológico, las células infectadas muestran una relación núcleo-citoplasma elevada y un citoplasma sincitial sin puentes intercelulares. Esto le confiere un aspecto basaloide o mal diferenciado ⁶⁴. Esta morfología se conserva de manera notable cuando el tumor metastatiza a nivel ganglionar o a distancia.

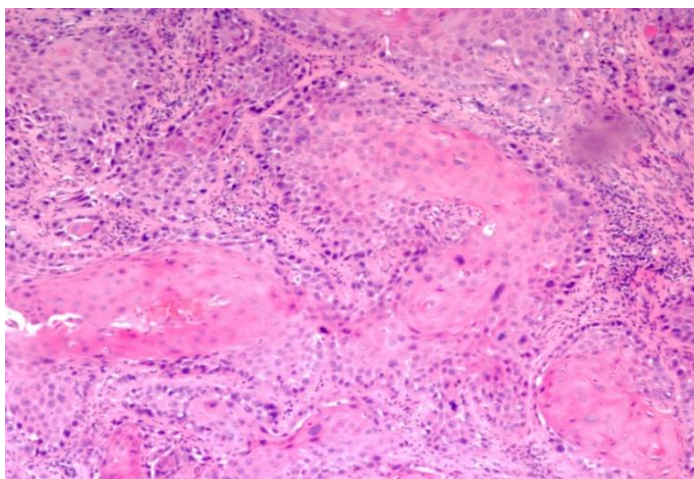


Figura 21: muestra histológica de carcinoma epidermoide de orofaringe

Otros tipos histológicos menos frecuentes y que han sido excluidos de nuestro estudio son: linfoepiteliomas, adenocarcinomas, carcinomas mucoepidermoides, adenoides quísticos, linfomas malignos (la mayoría son Linfomas No-Hodgkin), carcinomas microcíticos de amígdala, plasmocitomas primarios, tumores metastáticos de amígdala...

5. DIAGNÓSTICO

La evaluación inicial de un paciente con sospecha de carcinoma de orofaringe debe ser la exploración física, mediante la inspección de cavidad oral, la palpación de cavidad oral y región cervical y la laringoscopia indirecta y/o directa.

Si se objetiva lesión sospechosa primaria, se debe realizar biopsia directa. En caso de no objetivarse lesión primaria y sí tumoración cervical, se puede realizar una punción-aspiración con aguja fina (PAAF) de la misma. Esta técnica tiene una alta sensibilidad y especificidad, de hasta el 90% y 98% respectivamente ⁶⁵.

El estudio de extensión se debe completar con un estudio de imagen; éstos nos aportarán información de la infiltración local, de la afectación ganglionar, de la presencia de metástasis a distancia y de la presencia de posibles neoplasias secundarias.

Se pueden realizar:

- **TAC:** El grosor de los cortes de 3mm es generalmente suficiente y las imágenes deben ser reconstruidas y valoradas con ventana de tejidos blandos y hueso.

Comparado con la RNM, el TAC proporciona mayor resolución espacial del tumor, se pueden eliminar artefactos por movimiento, los tiempos de adquisición de imágenes son menores y tiene más sensibilidad para detectar invasión de corteza ósea y adenopatías patológicas (con diámetro axial mínimo de 10-11 mm y/o centro necrótico ⁶⁶).

Sin embargo el diagnóstico de la infiltración de cartílagos es dificultosa con una TAC convencional. Pero con los nuevos equipos que integran la energía dual, ha aumentado la sensibilidad para detectar este hallazgo patológico ⁶⁷.

- **RNM:** las secuencias de imagen más usadas en los estudios de cabeza y cuello son las T1 con y sin contraste, T2 y STIR (short-tau inversión recovery). Los cortes que más información aportan son los axiales y coronales. El grosor de los cortes debe ser menor o igual a 5mm.

La RNM proporciona mayor definición de los tejidos blandos, de los tumores superficiales o de lengua. Es más sensible que la TAC en la detección de infiltración de médula ósea y de cartílagos, de afectación perineural, invasión de base de cráneo, extensión tumoral intracraneal y valoración de glándulas parótidas.

- **PET:** es tan sensible y específico como la TAC y RNM para detectar tumores primarios de cabeza y cuello. Pero es más sensible en la detección de ganglios patológicos, metástasis a distancia y segundos tumores ⁶⁸.

Las guías de práctica clínica de la NCCN (National Comprehensive Cancer Network) recomiendan realizar a todos los pacientes con tumores de cabeza y cuello una TAC o RNM, y en aquellos pacientes estadios III o IV, completar el estudio de extensión con PET/TAC por el alto riesgo de diseminación a distancia.

6. ESTADIFICACIÓN DE LOS TUMORES DE OROFARINGE

Para estadificar estos tumores se utiliza el sistema TNM de la AJCC (American Join Committee on Cancer Stagin System), y en nuestro estudio hemos usado la séptima edición.

Por definición, hablamos de:

-Estadios iniciales (estadios I y II): tumores menores de 4cm sin invasión de estructuras vecinas y sin afectación ganglionar.

-Estadios localmente avanzados (estadios III y IV)

La categoría T está definida por el tamaño y la extensión del tumor primario:

T1	Tumor de diámetro mayor \leq a 2 cm
T2	Tumor $> 2\text{cm} - 4\text{cm}$ en su mayor dimensión
T3	Tumor $> 4\text{cm}$ en su mayor dimensión o extensión superficial a lengua o epiglotis
T4a	Tumor localmente avanzado, invadiendo laringe, musculatura extrínseca de la lengua, músculo pterigoideo medial, paladar duro o mandíbula
T4b	Tumor localmente muy avazado, invadiendo el músculo pterigoideo lateral, nasofaringe, base de cráneo o arteria carotídea

La categoría N está definida por la afectación ganglionar:

N0	No afectación ganglionar
N1	Metástasis en un ganglio ipsilateral $\leq 3\text{cm}$
N2a	Metástasis en un ganglio ipsilateral $> 3-6\text{ cm}$
N2b	Metástasis en múltiples ganglios ipsilaterales, $\leq 6\text{cm}$
N2c	Metástasis en ganglios contralaterales, $\leq 6\text{cm}$
N3	Metástasis en ganglio mayor a 6cm

La categoría M está definida por la presencia o no de metástasis a distancia:

M0	No metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia

La clasificación por estadios:

Estadio 0	Tis	N0	M0
Estadio I	T1	N0	M0
Estadio II	T2	N0	M0
Estadio III	T3	N0	M0
	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
Estadio IVA	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4a	N2	M0
Estadio IVB	T4b	Cualquier N	M0
	Cualquier T	N3	M0
Estadio IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1

7. ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EN LOS TUMORES DE OROFARINGE

Una vez diagnosticado y estadificado un tumor de orofaringe, la decisión terapéutica es llevada a cabo por un equipo multidisciplinar, integrado por Otorrinolaringología, Radiodiagnóstico, Anatomía Patológica, Cirugía Maxilofacial, Oncología Radioterápica y Oncología Médica.

Como en todos los tumores disponemos de varias armas terapéuticas como la Cirugía, Radioterapia y Quimioterapia.

A) Tratamiento de estadios iniciales

La cirugía y la radioterapia producen tasas similares de control loco-regional y supervivencia global en tumores precoces T1-2, N0 según reflejan estudios retrospectivos. No existen estudios prospectivos randomizados que comparen ambas opciones terapéuticas. La selección del tratamiento depende de la morbilidad asociada del paciente, del resultado estéticos y funcional previsto y de la necesidad de tratamiento de las áreas ganglionares.

Históricamente la radioterapia ha sido usada más frecuentemente, pero con las técnicas de cirugía mínimamente invasiva aplicada en casos seleccionados, como la cirugía robótica transoral (TORS) y la microcirugía transoral con láser (TLM) se están obteniendo buenos resultados oncológicos y funcionales ⁶⁹.

En cuanto al manejo del cuello, el riesgo de metástasis ganglionares ocultas en pacientes con tumores de orofaringe estadio T1 y T2 es alta, por lo que hay se recomienda el tratamiento del cuello con disección ganglionar o radioterapia electiva ganglionar. En tumores lateralizados (pj amígdala, paladar blando) se recomienda la irradiación o disección ganglionar ipsilateral de los niveles II a IV y en tumores centrales (pj base de lengua, pared faríngea posterior, vallécula) de los niveles II a IV bilaterales ⁷⁰.

Tratamiento adyuvante:

- En pacientes tratados de inicio con radioterapia: pacientes con enfermedad residual, cirugía de rescate.
- En pacientes tratados de inicio con cirugía: precisarán radioterapia postoperatoria +/- quimioterapia si márgenes de resección afectos, invasión linfovascular o perineural o afectación ganglionar extracapsular.

B) Tratamiento de estadios localmente avanzados.

En caso de pacientes potencialmente **RESECABLES**, no existen estudios prospectivos randomizados que comparen la cirugía con tratamiento conservadores. La selección del tratamiento estará marcada por la posibilidad de mantener la función del órgano y siempre será una decisión consensuada en la comisión de tumores multidisciplinar.

Si se opta por tratamiento quirúrgico, existen factores de riesgo que indican la necesidad de administrar tratamiento adyuvante:

- Márgenes positivos: la definición de este factor de riesgo no está estandarizada. Pero en la práctica clínica se suele considerar márgenes afectos si se objetiva presencia de células tumorales a menos de 5mm del borde quirúrgico ⁷¹.
- Extensión extracapsular ganglionar
- pN2/N3
- pT3/T4
- Invasión linfovascular
- Invasión perineural

Y en estos pacientes:

❖ *¿Qué tratamiento adyuvante está indicado, radioterapia exclusiva vs radioterapia-quimioterapia concomitante?*

Basándonos en los resultados obtenidos en dos grandes estudios fase III (EORTC 22931⁷² y RTOG 9501⁷³) en los que se aleatorizaron los pacientes a recibir RT exclusiva (60-66 Gy) vs RT-QT concomitantes (60-66 Gy- Cisplatino trisemanal), los pacientes que presentan márgenes positivos o afectación extracapsular se clasifican en pacientes de alto riesgo de recidiva y está indicado realizar RT-QT concomitante⁷⁴. Los pacientes que presenten estadios postquirúrgicos pT3/T4, pN2/N3, invasión linfovascular o perineural se clasifican en pacientes de riesgo intermedio de recidiva y está indicado realizar RT adyuvante exclusiva. En ambos estudios se objetivó mayor toxicidad aguda en pacientes tratados con RT-QT concomitantes, pero similar toxicidad tardía en ambos brazos. Actualmente está en marcha un ensayo fase III (RTOG 0920, NCT00956007) en el que se están aleatorizando a los pacientes de riesgo intermedio a recibir RT exclusiva vs RT-Cetuximab. Habrá que esperar a los resultados para ver si se cambian la actitud terapéutica o no en estos pacientes.

❖ *Y, ¿qué dosis y fraccionamiento de radioterapia administrar?*

Tras la cirugía, es importante comenzar el tratamiento adyuvante en un periodo de tiempo inferior a 6 semanas y completar todo el tratamiento en menos de 100 días desde la fecha de la cirugía. Si se cumplen estos plazos, disminuye el índice de recidivas locales^{75 76}.

En cuanto a la dosis recomendada, estaríamos entre 54-66 Gy, con un fraccionamiento estándar (2Gy/día, 5 días/semana). Se han ensayado esquemas hiperfraccionados y con fraccionamiento acelerado, demostrando mayor control local, pero sin mayor beneficio en cuanto a la supervivencia, y por su mayor coste y toxicidad no se han llegado a implantar^{77 78 79}.

Si se administra IMRT se definen CTV según el riesgo de recidiva:

-CTV de alto riesgo (lecho quirúrgico, márgenes afectos, afectación ganglionar extracapsular): 60-66 Gy

-CTV de riesgo intermedio (áreas ganglionares afectas sin afectación extracapsular): 57 Gy

-CTV de bajo riesgo (áreas ganglionares electivas): 50- 54Gy

❖ *Y, ¿qué esquema quimioterápico pautar?*

El tratamiento estándar es Cisplatino a altas dosis (100 mg/m^2 los días 1, 22). Este esquema produce una toxicidad aguda y tardía importante. En los estudios EORTC 22931⁷² y RTOG 9501⁷³ no se objetivó diferencias en cuanto a respuesta al tratamiento entre los pacientes que habían recibido 2 o 3 ciclos, por lo que en la práctica clínica, en la mayoría de los centros, prefieren administrar sólo 2 ciclos.

Carboplatino semanal es una alternativa a Cisplatino, en pacientes con bajo *performance status* o insuficiencia renal.

El uso de Cetuximab, como veremos más adelante, está abalado por numerosos estudios de forma concomitante a radioterapia en pacientes con carcinoma de orofaringe localmente avanzado en los que se realiza tratamiento conservador. Pero en el caso del tratamiento adyuvante, por el momento, no es un tratamiento estándar. Hay en marcha dos estudios fase III que podrán aclarar si cetuximab aporta beneficio a estos pacientes:

- RTOG 0920: en los que pacientes operados con riesgo intermedio de recidiva han sido aleatorizados a recibir RT (IMRT) con o sin cetuximab (NCT 01311063).

- RTOG 1216: en el que pacientes operados con alto riesgo de recidiva han sido aleatorizados a recibir RT (IMRT) concomitante con cisplatino, docetaxel o docetaxel-cetuximab (NCT01810913).

En pacientes **IRRESECABLES** la alternativa es tratamiento conservador basado en radioterapia concurrente con quimioterapia. En los tumores de gran tamaño se puede realizar cirugía citorreductora o quimioterapia neoadyuvante con el fin de disminuir el tamaño de campo de tratamiento.

Se nos plantean varias cuestiones:

❖ *¿Radioterapia exclusiva vs Radioterapia-Quimioterapia concomitantes?:*

Numerosos ensayos clínicos evidencian el beneficio de añadir quimioterapia a la radioterapia.

En un meta-análisis publicado en 2009⁸⁰ donde se recogían 93 ensayos clínicos y 16485 pacientes de tumores de Cabeza y Cuello, que recibieron tratamiento local

exclusivo o tratamiento quimioterápico añadido a éste (quimioterapia de inducción, concomitante o adyuvante) de los cuales 5872 habían sido diagnosticados de cáncer de orofaringe, se objetivó que la quimioterapia añadida a la radioterapia disminuye significativamente el riesgo de muerte (HR 0.88, 95% CI 0.82-0.93); esto se corresponde con un aumento absoluto del 5% en la supervivencia global a los 5 años. Además:

- no se objetivaron diferencias estadísticamente significativas con distintos fraccionamiento de radioterapia.
- no se registró beneficio en pacientes mayores de 70 años.
- el uso de quimioterapia concomitante con radioterapia aportó mayor control local, mientras que el uso de quimioterapia de inducción, aportó mayor control a distancia.
- no se objetivó beneficio con el uso de quimioterapia adyuvante.

❖ ***¿En qué momento administrar la Quimioterapia? ¿Quimioterapia de inducción o concomitante?***

Parece lógico que la quimioterapia de inducción puede tratar metástasis subclínicas, puede conseguir la preservación de órgano si reduce el tamaño inicial de la lesión, puede aportar información de la sensibilidad de las células tumorales al fármaco elegido y así prescribir el esquema concomitante. Pero a su vez, aumenta la toxicidad y se puede comprometer el cumplimiento del esquema terapéutico completo, puede inducir resistencia al tratamiento de las células tumorales y retrasa el tratamiento local.

Distintos estudios han intentado resolver esta controversia.

- Ensayo fase III del Grupo Español de Tumores de Cabeza y Cuello ⁸¹: 439 pacientes fueron aleatorizados a recibir:
 - quimioterapia de inducción (Docetaxel, Cisplatino, Fluorouracilo) seguido de RT-QT concomitantes (Cisplatino cada 21 días)
 - RT-QT concomitantes (Cisplatino cada 21 días)

No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia global ni en la supervivencia libre de enfermedad.

- Ensayo fase II/III italiano (NCT01086826): 421 pacientes fueron aleatorizados a recibir:

- quimioterapia de inducción (Docetaxel, Cisplatino, Fluorouracilo por tres ciclos) seguido de RT-QT concomitante (a su vez divididos en dos grupos: Cetuximab vs Cisplatino-Fluorouracilo)
- RT-QT concomitantes exclusivamente con el mismo esquema.

En 2014 se presentaron en el Congreso Anual de la American Society of Clinical Oncology (ASCO) los resultados preliminares con 41 meses de seguimiento con una mayor supervivencia global y supervivencia libre de progresión en el grupo que había recibido QT de inducción. Pero están pendientes de publicación los resultados definitivos.

- Ensayo DeCIDE ⁸²: 280 pacientes fueron aleatorizados a recibir:
 - quimioterapia de inducción (Docetaxel, Cisplatino, Fluorouracilo por dos ciclos) seguido de RT-QT concomitantes (Docetaxel, fluorouracilo e hidroxiurea).
 - RT-QT concomitantes con un esquema similar.

El ensayo fue cerrado por falta de reclutamiento. No se encontraron diferencias en la supervivencia global o libre de enfermedad.

❖ *¿Qué esquema farmacológico usar en quimioterapia de inducción?*

Los primeros estudios que se realizaron usaban la combinación Cisplatino-Fluorouracilo ⁸³. Posteriormente se añadieron en los ensayos TAX323 ⁸⁴ y TAX324 ⁸⁵ los taxanos al esquema de Cisplatino-Fluorouracilo con aumento de la supervivencia global y libre de enfermedad.

En la actualidad sigue siendo controvertido el uso de la Quimioterapia de inducción. Habrá que esperar más estudios aleatorizados para aclarar esta cuestión.

En la práctica clínica, la decisión de administrar o no inducción debe ser consensuada en el Comité de tumores multidisciplinar. Parece que los pacientes que más se podrían beneficiar de ella son pacientes con buen estado general y más riesgo de metástasis a distancia (N2b, N2c o N3) o pacientes con lesiones de gran tamaño que no son abordables con radioterapia por no cumplir requisitos dosimétricos en órganos de riesgo.

❖ “¿Qué esquema quimioterápico concomitante con la Radioterapia?”.

El esquema estándar es Cisplatino 100mg/m² cada 21 días, sin haberse hallado diferencias entre recibir 2 o 3 ciclos ⁸⁶.

Otras alternativas serían:

- Carboplatino: es un fármaco más mielosupresor pero causa menos neurotoxicidad, nefrotoxicidad, náuseas y vómitos. Aunque no es tan radiosensibilizante como el cisplatino a altas dosis ⁸⁷, es una alternativa en pacientes con mal *performance status* o insuficiencia renal ⁸⁸.
- Inhibidores del Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR): Cetuximab.

En un ensayo multinacional se aleatorizaron los pacientes a recibir radioterapia exclusiva vs radioterapia-Cetuximab (IMCL-9815 ⁸⁹). Se objetivó una mayor supervivencia global y mayor control loco-regional en el brazo que recibió Cetuximab. Pero en un subanálisis, sólo se objetivó beneficio en los pacientes menores de 65 años y con *performance status* del 90-100%. Por lo tanto, no está avalado el uso de Cetuximab en pacientes mayores o con comorbilidad en los cuales está contraindicado el Cisplatino. En estos pacientes se recomienda Radioterapia exclusiva.

Además el uso de Cetuximab está asociado con mayor frecuencia a toxicidad aguda (p.j radiodermatitis grado 3-4) que en ocasiones obliga a suspender el tratamiento radioterápico.

Recientemente se ha publicado un subanálisis de este ensayo analizando la asociación con el estatus p16+ ⁹⁰. En el subgrupo p16+ se objetivó una mayor supervivencia global, libre de enfermedad y control loco-regional, pero las diferencias con el subgrupo p16- no fueron estadísticamente significativas.

Actualmente hay en marcha varios ensayos fase III comparando el uso concomitante a radioterapia de Cisplatino vs Cetuximab, de los cuales sólo tenemos resultados preliminares o estamos a la espera de los mismos:

- En el ensayo del grupo Italiano, no se han objetivado diferencias estadísticamente significativas en cuanto a supervivencia global, control loco-regional o abandonos del tratamiento. Pero si que se ha registrado mayor número de interrupciones del tratamiento en el brazo de Cetuximab. ⁹¹

- Ensayo RTOG 1016 fase III: se han recogido 1000 pacientes p16+ y se han aleatorizado a recibir radioterapia concomitante a Cisplatino trisemanal vs radioterapia concomitante a Cetuximab semanal (NCT01302834).
- Ensayo RTOG 0522 fase III ⁹²: donde no se ha encontrado beneficio al añadir Cetuximab a Radioterapia-Cisplatino.

❖ *¿Qué dosis de radioterapia y fraccionamiento administrar?*

El esquema clásico en este tipo de tumores es 70Gy, 2Gy/sesión, 1 sesión/día, 5 sesiones/semana.

Pero se han investigado ampliamente esquemas de hiperfraccionamiento o fraccionamiento acelerado.

- Hiperfraccionamiento: consiste en administrar múltiples fracciones al día, de dosis menores, y en algunas ocasiones también incluye una escalada de dosis. Por ejemplo: 1.1 o 1.2 Gy/sesión, 2 sesiones/día (con un intervalo de 6 horas entre ambas), 5 días/semana dosis total 74-82Gy.
- Fraccionamiento acelerado: consiste en administrar la misma dosis del tratamiento estándar en un periodo más corto para disminuir la repoblación tumoral, es decir, 66-72 Gy, 1 sesión/día, 6-7 días/semana.

En 2006 se publicó un meta-análisis (MARCH meta-análisis ⁹³, 6515 pacientes), en el cual los esquemas hiperfraccionado, acelerado o acelerado con reducción de dosis aportaban mayor control local y aumento de la supervivencia global con un beneficio absoluto de 3.4% en 5 años (HR 0.92), y el esquema que más beneficio aportaba era el esquema hiperfraccionado con un beneficio absoluto del 8% frente al 2% de los esquemas acelerados. En un subanálisis posterior, se objetivó que el mayor beneficio se presentaba en los pacientes jóvenes, mientras que los mayores de 70 años no se beneficiaban ⁹⁴.

En el ensayo RTOG 9003 ⁹⁵, se recogieron 1076 pacientes con carcinomas localmente avanzados de cabeza y cuello y se trataron sin quimioterapia, con distintos esquemas de radioterapia:

- Fraccionamiento estándar: 70 Gy, 2Gy/sesión, 5 días/semana
- Hiperfraccionamiento: 81.6 Gy, 1.2Gy/sesión, 2 sesiones/día, 5 días/semana

-Fraccionamiento acelerado con una interrupción durante el tratamiento: 67.2Gy, 1.6Gy/sesión, 2 sesiones/día, 5 días/semana. Con un descanso de dos semanas, tras alcanzar los 38.4Gy.

-Fraccionamiento acelerado con boost integrado: 72Gy, 1.8Gy/sesión, 5 días/semana. Y en los últimos 12 días de tratamiento se añade una segunda sesión diaria de 1.5Gy/sesión.

En los primeros resultados publicados tras 23 meses de seguimiento se objetivó mayor control local y supervivencia libre de enfermedad en los pacientes tratados con el esquema de hiperfraccionamiento y fraccionamiento acelerado con boost integrado. Sin embargo, en la publicación de los resultados definitivos, tras 14 años de seguimiento mediano sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el control local y supervivencia global con el esquema hiperfraccionado, pero asociado a un incremento en la toxicidad tardía.

En el ensayo DAHANCA 6 ⁹⁶, 694 pacientes fueron randomizados a recibir RT 6días/semana vs 5días/semana. En el brazo del fraccionamiento acelerado se recogió mayor control local, pero no diferencias estadísticas en la supervivencia global y sí mayor toxicidad.

En un ensayo publicado por el grupo polaco ⁹⁷, 100 pacientes fueron randomizados en un esquema acelerado, tratándose 7 días/semana vs fraccionamiento estándar. El control local y supervivencia global a 5 años fue mejor en el grupo de fraccionamiento acelerado, aunque la toxicidad fue mucho mayor.

Aunque en todos estos estudios parece que el control local y la supervivencia global es mayor con los fraccionamientos acelerados o hiperfraccionados, todos ellos fueron realizados sin quimioterapia concomitante. Posteriormente, varios estudios han reflejado que los fraccionamientos modificados no son superiores que el fraccionamiento clásico con quimioterapia concomitante, por ejemplo:

- Brizel et al ⁹⁸: 116 pacientes fueron randomizados a RT exclusiva con hiperfraccionamiento vs RT estándar concomitante con fluorouracilo y cisplatino. A los tres años, se objetivó mayor control local, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global con el fraccionamiento estándar concomitante a quimioterapia. La toxicidad fue similar en ambos brazos.

- RTOG 0129 ⁸⁶: no se objetivaron diferencias significativas en la supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y en metástasis a distancia entre el fraccionamiento estándar concomitante a cisplatino y el fraccionamiento acelerado con boost concomitante.

En cuanto a la toxicidad, se objetiva un aumento en la toxicidad aguda en todos los esquemas alterados y no en la toxicidad tardía. Además hay que tener en cuenta que no todos los estudios anteriormente referidos han sido realizados con técnicas de IMRT e IGRT con las cuales la toxicidad es significativamente menor con técnicas de 3D ⁹⁹. En los estudios que están en marcha, la RTOG ya ha incluido en todos sus protocolos que la radioterapia sea IMRT-IGRT, por lo que habrá que esperar resultados en un futuro para definir el esquema radioterápico más adecuado.

Si se administra IMRT se definen distintos CTVs:

- CTV de alto riesgo (tumor primario, ganglios afectos): 66-70 Gy
- CTV de riesgo intermedio (nivel ganglionar en el que se encuentra el ganglio afecto): 60-63 Gy
- CTV de bajo riesgo (áreas ganglionares electivas): 54-56 Gy

❖ *Duración del tratamiento*

Siempre que sea posible por la situación clínica del paciente, lo deseable es iniciar la RT-QT concomitante a las 3-5 semanas de haber concluido la QT de inducción ¹⁰⁰. Y que el tiempo de irradiación no sea superior a 8 semanas ¹⁰¹. Tiempos superiores influyen negativamente en la supervivencia.

C) Manejo del cuello

- Tras RT-QT definitiva: En pacientes con estadios localmente avanzados, tras finalizar el tratamiento conservador, se recomienda una exploración clínica a las 6 semanas. Si se objetiva progresión del tumor primario o de adenopatías, se recomienda un rescate quirúrgico.

A las 12 semanas se debe realizar un control radiológico mediante TAC, RNM o PET/TAC. Si persiste enfermedad se planteará un rescate quirúrgico.

- Tratamiento quirúrgico:
 - En pacientes cN0: se recomienda disección profiláctica de los niveles I-IV ipsilateral en tumores primarios laterales o bilateral en tumores primarios centrales.
 - En pacientes cN1: disección ganglionar selectiva, incluyendo niveles I-IV.
 - En pacientes cN2: disección ganglionar radical.

Desde el punto de vista práctico, en las siguientes tablas se resume el algoritmo terapéutico, sin olvidar que hay que pautar el tratamiento a cada paciente de forma individualizada.

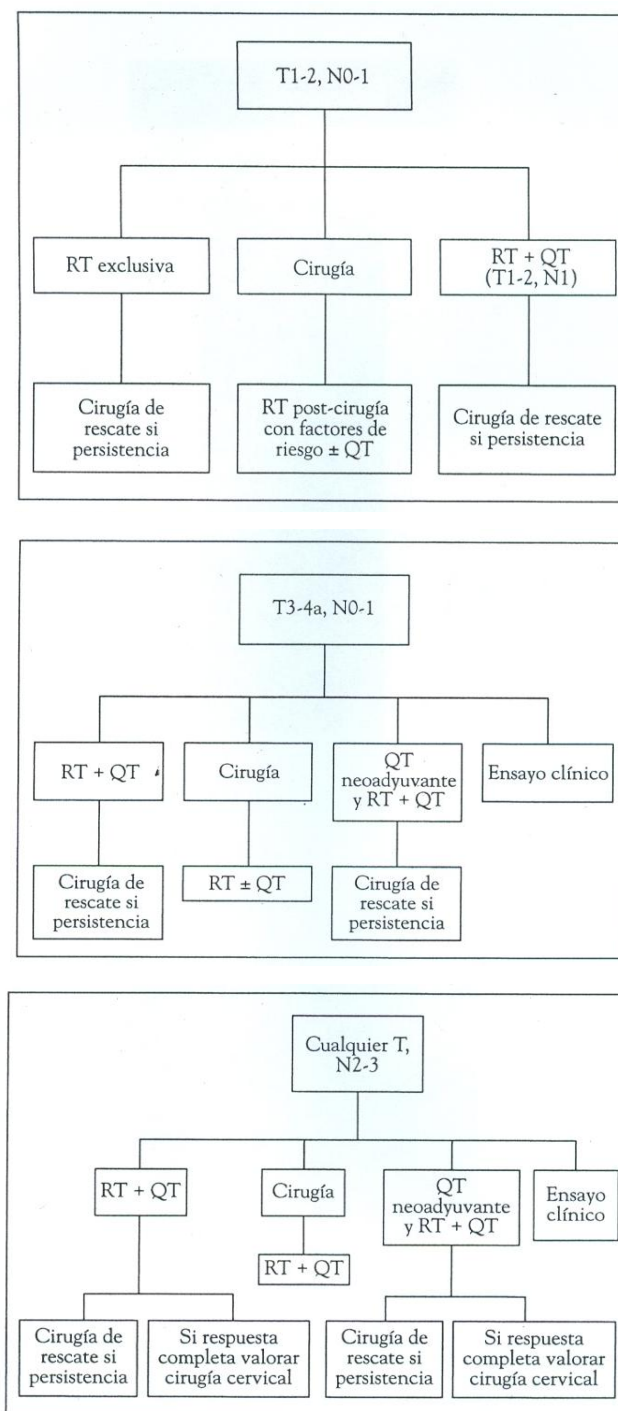


Figura 22: Algoritmo terapéutico en tumores de orofaringe.
(Tomada del libro Oncología Radioterápica: principios, métodos, gestión y práctica clínica. F. Calvo et al.)

8. PRONÓSTICO

En un análisis estadístico realizado por el SEER (“Surveillance, Epidemiology and End Results”, programa del Instituto Nacional del Cáncer de EEUU para la vigilancia y análisis de la incidencia y supervivencia del cáncer en EEUU), se objetivó que los pacientes de tumores de orofaringe presentan a los 5 años una supervivencia global de 53%, con peor pronóstico los paciente diagnosticados en estadios avanzados (estadio III-IV), en los cuales la supervivencia a los 5 años es del 40% ¹⁰².

En pacientes con tumores de orofaringe diagnosticados en estadios iniciales, estadio I y II, el control loco-regional a 5 años es de 85-88% y la supervivencia causa-específica a 5 años es de 86-89% ^{103 104}.

En el caso de los paciente con carcinoma de orofaringe HPV+ son distintos estos datos. En la década pasada se publicaron numerosos estudios **retrospectivos** cuyos resultados sugerían que los pacientes con carcinoma epidermoide de orofaringe HPV positivo tenían mejor pronóstico que los pacientes HPV negativo. Algunos de los más representativos son:

- *Mellin et al* ¹⁰⁵ en 2000: en una muestra de 60 pacientes tratados sólo con Radioterapia (45%) o Cirugía-Radioterapia (55%), en el 43% de los tumores se objetivó el HPV. Los pacientes HPV+ tuvieron menor riesgo de recidiva a los 3 años, con una odds ratio de 4.18 comparado con los pacientes HPV- ($p = 0.025$). La supervivencia cáncer específica a los 3 años fue del 65.3% en el grupo HPV+ vs 31.5% en el grupo HPV- ($p = 0.047$).

-*Gillison et al* ¹⁰⁶ en 2000: en una muestra de 253 pacientes, en el 25% de las tumores se objetivó el HPV. Los pacientes HPV + tuvieron una reducción del 59% del riesgo de muerte cáncer específica (HR = 0.41; 95% CI = 0.20-0.88).

-*Schwartz et al* ¹⁰⁷ en 2001: en una muestra de 254 pacientes, en el 15.7% de las muestras se objetivó el HPV. Se objetivó una menor mortalidad en los pacientes HPV+ (HR = 0.34; 95% CI = 0.14-0.83) y una menor mortalidad cáncer específica (HR = 0.17; 95% CI = 0.04-0.76)

-*Linder et al*¹⁰⁸ en 2001: analizaron 99 pacientes, de los cuales 14 fueron HPV+. En los pacientes HPV+ se registró mayor supervivencia global. En el análisis multivariante, se objetivó menor riesgo de recidiva local en los pacientes HPV+ (RR, 0.31; P = 0.048).

-*Weinberger et al*¹⁰⁹ en 2006: recogieron 123 pacientes. En el 20% de ellos, la determinación por inmunohistoquímica de p16 fue positiva. La sobreexpresión de p16 se asoció de forma significativa a una mayor supervivencia global a 5 años (60% vs 21%), a una mayor supervivencia libre de enfermedad a 5 años (62% vs 19%) y una mayor control loco-regional a 5 años (89% vs 47%).

-Un meta-análisis publicado en 2007 por *Ragin et al*¹¹⁰, reflejó que los pacientes con tumores HPV + tienen una reducción del riesgo de muerte del 28% (meta HR 0.72; 95% CI: 0.5-1) y menor riesgo de recurrencia (meta HR 0.62; 95% CI 0.5-0.8) que los pacientes HPV -. No se objetivaron diferencias en la supervivencia global entre pacientes con tumores HPV + y - de otras localizaciones distintas a la orofaringe.

Ante estos resultados tan alentadores se iniciaron estudios multicéntricos **fase II y fase III** para confirmar si el estatus HPV positivo en pacientes con carcinoma de orofaringe es un factor pronóstico positivo:

-*ECOG 2399*¹¹¹: estudio fase II, donde se incluyeron 111 pacientes estadios III y IV tratados de forma conservadora con Quimioterapia de inducción, seguida de RT-QT concomitantes. El HPV fue detectado en el 40% de los pacientes. La supervivencia global a 2 años fue mayor en pacientes HPV + (95% vs 62%, p=0.005).

-*RTOG 0129*⁵: estudio fase III, que incluyó 721 pacientes con tumores de Cabeza y Cuello estadios III y IV, de los cuales el 60% presentaban tumores de orofaringe. Estos pacientes fueron tratados con RT-QT concomitante (cisplatino-RT a fraccionamiento clásico vs cisplatino-RT con fraccionamiento acelerado). No se objetivaron diferencias entre los dos tratamientos. Pero sí en el pronóstico de los pacientes HPV + vs HPV-,

con mayor supervivencia global a 3 años (82.4% vs 57.1%, $p<0.001$) y supervivencia libre de enfermedad a 3 años (73.7% vs 43.4%, $p<0.001$).

-*TROG 02.02*¹¹²: estudio fase III, con 861 pacientes de tumores de cabeza y cuello de los cuales 465 eran de orofaringe. Los pacientes fueron tratados con RT-Cisplatino vs RT-Cisplatino-Tirapazamina. La interacción p16 con los distintos tratamientos no fue estadísticamente significativa. Pero en los pacientes p16+, sí se objetivó mayor supervivencia global a 2 años (91% vs 74%) y mayor supervivencia libre de enfermedad a 2 años (97% vs 72%); dichas diferencias fueron estadísticamente significativas.

-*TAX-324*¹¹³: estudio fase III, con 501 pacientes de tumores de Cabeza y Cuello, 53% de ellos con tumores de orofaringe. El 50% de los pacientes fueron HPV+. Los pacientes fueron tratados con QT de inducción (Docetaxel-Cisplatino-Fluorouracilo vs Cisplatino-Fluorouracilo seguido de RT-Carboplatino concomitante). Con una mediana de seguimiento de 80 meses, la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad fue en pacientes HPV+ del 79% y 73 % respectivamente, frente a 31% y 29% en pacientes HPV- ($p=0.0001$). Hubo una reducción de la mortalidad del 80% en los pacientes HPV+ (HR 0.2; 95% CI 0.10-0.38)

-*DAHANCA*¹¹⁴: este grupo danés determinó la expresión de p16 por inmunohistoquímica en la muestras tumorales de 156 pacientes con cáncer de orofaringe tratados con RT exclusiva en distintos esquemas de fraccionamiento, encontrando la sobreexpresión de la p16 en el 22% de las muestras. La positividad se correlacionó significativamente con mejor control tumoral loco-regional a 5años (58% vs 28%, $p=0.005$), mejor supervivencia libre de enfermedad a 5 años (72% vs 34%, $p=0.006$) y mejor supervivencia global a 5 años (62% vs 26%, $p=0.003$).

Basándonos en la literatura científica, hay evidencia de que los pacientes con cáncer de orofaringe HPV+ tienen mejor pronóstico que los HPV-.

9. SEGUIMIENTO

Tras completarse el tratamiento conservador con intención radical, es importante reevaluar al paciente para determinar si presenta una respuesta completa, si persiste enfermedad residual o si se ha producido una progresión de la lesión tumoral.

Se recomienda una exploración física exhaustiva a las 6 semanas de completar el tratamiento. Si se evidencia progresión de la lesión primaria o de la afectación metastásica ganglionar, se recomienda rescate quirúrgico.

A las 12 semanas de completar el tratamiento se recomienda una prueba de imagen (TAC, RNM o PET/TAC). Si persiste enfermedad se planteará un rescate quirúrgico.

El seguimiento tiene que ser más intensivo en los dos primeros años, porque es en este periodo cuando se objetivan el 80-90% de las recidivas¹¹⁵.

Posteriormente se debe hacer un seguimiento para detectar recurrencias tardías o segundas neoplasias (especialmente las asociadas a factores de riesgo como el tabaco si éste está presente).

Según las guías de práctica clínica NCCN se recomienda revisiones clínicas:

- En el primer año: cada 1-3 meses
- En el segundo año: cada 2-6 meses
- En el tercer-quinto año: cada 4-8 meses
- A partir del sexto año: cada año.

Se recomienda en cada revisión:

- Historia clínica: insistiendo en síntomas clínicos de posibles recidivas (dolor, disfagia, trismus, disfonía...)
- Exploración física y fibroscopia.
- Monitorización de hormonas tiroideas en sangre cada 6-12 meses si en el campo de irradiación se incluyó la glándula tiroides.
- Prueba de imagen: la realización de prueba de imagen en el seguimiento de estos pacientes es controvertido. Si hay una sospecha clínica, se

solicitará TAC cervical, RNM cervical o PET. En caso contrario, se recomienda individualizar el seguimiento según el riesgo de recidiva o segundas neoplasias del paciente, valorando también la irradiación recibida en cada estudio de imagen, especialmente, en pacientes jóvenes con buen pronóstico ¹¹⁶.

Además, en pacientes tratados de carcinomas de cabeza y cuello, la localización más frecuente de segundas neoplasias es el pulmón ¹¹⁷, con una incidencia acumulada estimada del 13% a 20 años ¹¹⁸. Y también el pulmón es la localización más frecuentes de metástasis de primarios de cabeza y cuello. En las guías NCCN, se recomienda realizar a los pacientes con una IPA mayor a 20 paquetes/año, una TAC torácico anual.

II. *JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO*

La incidencia del carcinoma de orofaringe está cambiando mundialmente, apareciendo en sujetos más jóvenes, no fumadores y no bebedores. Este cambio en la epidemiología parece deberse al papel del Virus del Papiloma Humano. Los tumores en estos pacientes suelen ser loco-regionalmente avanzados, pero presentan mayor respuesta a la radioterapia con o sin quimioterapia.

La mayoría de los estudios publicados, se han realizado en Estados Unidos y en algún país europeo, pero carecemos de datos sobre la incidencia de la infección en nuestro medio. Sólo existe publicado un estudio de prevalencia en Asturias ³², por Rodrigo et al en 2014.

Si se confirma la alta prevalencia de infección por HPV y su valor pronóstico, se podría aplicar en un futuro la técnica de detección de HPV en la práctica asistencial a todos los pacientes con carcinoma de orofaringe. El conocimiento de este factor molecular nos ayudaría a estimar de forma más precisa el pronóstico de estos pacientes y a individualizar su tratamiento. Si un tumor es HPV positivo, se podría proponer un tratamiento más conservador.

III. *OBJETIVOS*

1. OBJETIVOS PRIMARIOS

-Establecer la prevalencia de la infección por HPV en los pacientes con cáncer de orofaringe en una subpoblación de la Comunidad de Madrid, determinando la presencia del virus en las muestras tumorales mediante la determinación de la sobreexpresión de la proteína p16 mediante inmunohistoquímica.

-Determinar el valor pronóstico de la infección por HPV y su valor predictivo de respuesta al tratamiento. Para ello, se estudiará la correlación entre el estatus p16+ o p16- con la supervivencia global del paciente, supervivencia libre de enfermedad y control loco-regional a 3 y 5 años.

2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

-Evaluar la prevalencia e influencia en el pronóstico de otros factores de riesgo independientes :

- edad al diagnóstico
- sexo
- consumo de tabaco
- consumo de alcohol
- ECOG
- localización del tumor
- estadio del tumor
- tratamiento recibido

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

A) Diseño

El estudio se ha realizado en dos etapas:

- Primera etapa: estudio descriptivo transversal de prevalencia, en el que se han recogido las muestras biológicas de pacientes diagnosticados de carcinoma epidermoide de orofaringe, confirmado histológicamente, entre Enero de 2000 y Diciembre de 2013, tratados en los servicios de Oncología Radioterápica del Hospital Universitario de La Princesa, Hospital Puerta de Hierro, Hospital 12 de Octubre y Hospital Ramón y Cajal y se ha determinado la sobreexpresión de la proteína p16 mediante inmunohistoquímica.
- Segunda etapa: estudio de dos cohortes retrospectivo, considerando la cohorte de expuestos a aquellos pacientes cuyas muestras no han presentado sobreexpresión de la proteína p16, y la cohorte de no expuestos a los pacientes cuyas muestras han presentado sobreexpresión de la proteína p16. El efecto a medir ha sido el éxito y la recidiva. El tiempo mínimo de seguimiento de cada cohorte ha sido 12 meses.

Se ha respetado la confidencialidad de los resultados, de acuerdo a la ley de protección de datos.

B) Ámbito de estudio

Población de la Comunidad de Madrid.

2. POBLACIÓN A ESTUDIO

A) Procemidimiento para la inclusión de pacientes

En los servicios de Anatomía Patológica de los cuatro centros hospitalarios participantes en el estudio se seleccionaron las muestras de pacientes diagnosticados de carcinoma epidermoide de orofaringe o cualquiera de sus sublocalizaciones (base de lengua, amígdala, paladar blando, vallécula, pared faríngea posterior) y fueron trasladadas mediante correo interno al servicio de Anatomía Patológica del Hospital De La Princesa.

B) Criterios de inclusión

- Pacientes mayores de 18 años.
- Diagnóstico histopatológico de carcinoma epidermoide de orofaringe en el tumor primario localizado en cualquiera de las sublocalizaciones de la orofaringe (base de lengua, amígdala, paladar blando, vallécula, pared faríngea posterior)
- Diagnóstico realizado entre Enero de 2000 y Diciembre 2013.
- Pacientes tratados con intención radical (cirugía, radioterapia y/o quimioterapia), que hayan completado el tratamiento.
- Tratamiento recibido en el Hospital De La Princesa, Hospital Puerta de Hierro, Hospital 12 de Octubre u Hospital Ramón y Cajal.
- Pacientes que hayan finalizado su tratamiento oncológico antes del 1 de Julio de 2014.
- Ausencia de metástasis a distancia.
-

C) Criterios de exclusión

- Tumores de cabeza y cuello primarios localizados en nasofaringe, hipofaringe o laringe.
- Pacientes con biopsia diagnóstica de adenopatías y no del tumor primario.
- Pacientes tratados con intención paliativa.
- Pacientes que no hayan completado el tratamiento radical.
- Histologías no epidermoides.

3. VARIABLES DEL ESTUDIO

A) Variables independientes

- Edad al diagnóstico
- Sexo: varón, mujer
- ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group performance status): 0,1,2,3,4. ^{Tabla 1}
- Consumo de tabaco: si/no
- IPA (Índice Paquete Año= número de cigarrillos al día multiplicado por número de años fumando dividido entre 20): menor de 20, mayor o igual a 20.
- Consumo de alcohol moderado o severo (>40gr/día en varones y >20gr/día en mujeres): si/no
- Sublocalización: base de lengua, amígdala, paladar blando, vallécula, pared faríngea posterior.
- Estadío clínico según la clasificación TNM de la AJCC, 7ª edición. ^{Tabla 2}
- Sobreexpresión de la proteína p16 detectada mediante inmunohistoquímica: si/no
- Tratamiento quirúrgico: si/no. En caso positivo: fecha, presencia en el estudio anatomopatológico de la pieza quirúrgica de borde afecto por el tumor o afectación ganglionar extracapsular.
- Tratamiento radioterápico: si/no. En caso positivo: fecha de inicio y fin. Dosis recibida (Gy). Técnica utilizada (IMRT, 3D).
- Tratamiento quimioterápico: si/no. En caso positivo: esquema neoadyuvante, concomitante con radioterapia, número de ciclos, fármaco administrado, fecha de inicio y fin.
- Respuesta radiológica tras la finalización del tratamiento RT-QT (definida en TAC o RNM realizada a los dos meses de la finalización del tratamiento): respuesta completa, parcial, progresión.
- Vaciamiento ganglionar de rescate: si/no. Fecha.
- Fecha último seguimiento.

B) Variables dependientes

- Recidiva: local, regional o a distancia. Fecha de 1ª recidiva.
- Tratamiento de 1º recidiva: no tratamiento, cirugía, radioterapia, quimioterapia.
- Éxito: si/no. Fecha.
- Situación actual: vivo sin enfermedad, vivo con enfermedad, muerto por enfermedad, muerto sin enfermedad.
- Supervivencia global.
- En el subgrupo de pacientes tratados con cirugía o tratados con Radioterapia-Quimioterapia con respuesta radiológica completa: supervivencia libre de enfermedad.
- En el subgrupo de pacientes tratados con Radioterapia-Quimioterapia con respuesta parcial o enfermedad estable: supervivencia libre de progresión.
- Control loco-regional: porcentaje de pacientes que no presentan enfermedad a nivel local o regional.

4. PLAN DE TRABAJO

A) Reclutamiento de los pacientes y creación de una base de datos

Búsqueda retrospectiva de los pacientes diagnosticados de Carcinoma de Orofaringe entre el 1 Enero de 2000 y 31 Diciembre de 2013. Posteriormente, localización de las muestras biológicas de la biopsia diagnóstica (bloque) conservadas en parafina en los archivos de los servicios de Anatomía Patológica correspondientes y su envío al servicio de Anatomía Patológica del Hospital De La Princesa. Comprobación, revisando la historia clínica informatizada, el cumplimiento de los criterios de inclusión y creación de una base de datos anonimizada.

B) Preparación de las muestras histológicas

Selección del corte de la muestra en el que la presencia de células tumorales es más significativa por parte del anatomopatólogo.

C) Estudio de p16 mediante inmunohistoquímica

Para ello se realizaron cortes de 5 micras sobre portaobjetos tratados. Los cortes se desparafinaron con xilol e hidrataron en gradiente de alcoholes. Tras la desparafinización de las muestras, se realizaron las técnicas IHQ para la determinación de la expresión de la proteína p16, incubando las muestras con un anticuerpo monoclonal murino frente al p-16, usando un kit comercial (MTM laboratories, Heidelberg, Germany) durante 20 minutos a temperatura ambiente.

El resultado de la inmunorreactividad de p-16 se ha considerado positivo si la tinción ha sido intensa o extensa en el núcleo y en el citoplasma (>70% de las células

tumorales). El tumor se ha considerado negativo si no ha habido tinción o sólo ha sido local. Se ha usado un p-16 positivo de control.

D) Seguimiento

Recogida de datos de la historia clínica informatizada. Seguimiento hasta el 1 de Julio de 2015, con un seguimiento mínimo de 12 meses.

E) Análisis estadístico

Procesamiento estadístico de la base de datos anonimizada con los datos recogidos sobre las variables dependientes e independientes mencionadas en este estudio mediante el programa estadístico SPSS v21.

En primer lugar, se realizará un análisis estadístico descriptivo de cada una de las variables de la base de datos; para ello, en el caso de las variables cualitativas, se presentará una tabla de frecuencias (absolutas y relativas) y como representación gráfica el gráfico de sectores; en el caso de las variables cuantitativas, se presentará para cada una de ellas: media, mediana, mínimo y máximo.

En esta fase se obtendrá la frecuencia de tumores HPV+ en nuestra serie.

Para poder comparar el pronóstico de las dos cohortes, HPV+ y HPV-, se realizará a continuación un análisis bivalente para comprobar que ambas cohortes de estudio son homogéneas con respecto a posibles factores de riesgo confusores (en el caso en el que se hayan producido desequilibrios entre los grupos se controlarán estas variables mediante análisis multivariable). Para ello, en el caso de variables cualitativas se realizará el test Chi-cuadrado (en tablas $r \times s$) o el test de Fisher (en tablas 2×2), evaluando los correspondientes Riesgo Relativos y sus Intervalos de Confianza. En el caso de variables cuantitativas, se estudiará la normalidad de éstas a través del test de Kolmogorov Smirnov y se utilizará el Test t-Student para muestras independientes o el test no paramétrico U-Mann Whitney.

Además se planteará un análisis multivariante para determinar los diferentes análisis de supervivencia con el estimador de Kaplan-Meier y se calculará el test de log-rank para comparar la supervivencia por grupos. Los resultados se expresarán gráficamente y en forma tabular con la supervivencia estimada a distintos tiempos de seguimiento (1,2 y 5 años) y el tiempo de seguimiento expresado como la mediana de seguimiento.

Finalmente se planteará una regresión de Cox en la que se determinará qué factores son de riesgo para la supervivencia, y en qué medida lo son éstos. Así se obtendrán las Hazard Ratio y su correspondiente intervalo de confianza.

Para todos los análisis se considerará significativo un valor $\alpha=0.05$

V. RESULTADOS

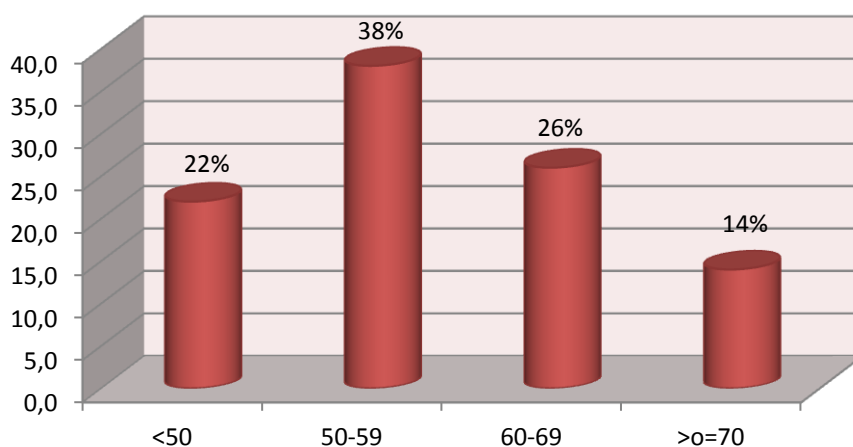
1. DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA

Desde Enero de 2000 hasta Diciembre de 2013, se han recogido a 175 pacientes diagnosticados y tratados de carcinoma epidermoide de orofaringe con intención radical en nuestros servicios.

La mediana de seguimiento ha sido 31 meses, y la media 46 meses.

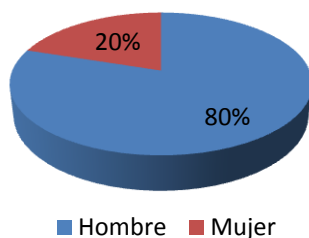
La edad mediana al diagnóstico es 57 años (mínimo 35- máximo 79 años) y la edad media 58 años.

Grupos de edad



140 son varones y 35 mujeres.

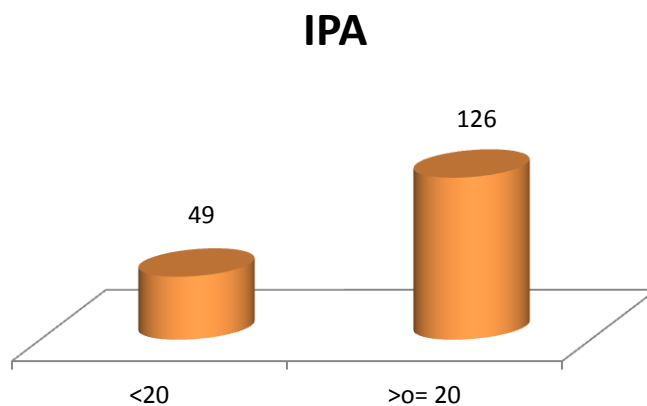
Sexo



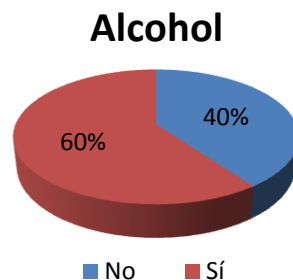
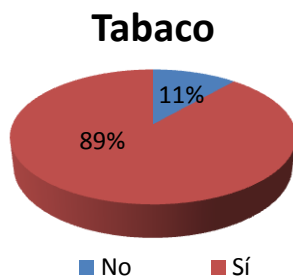
En el momento del diagnóstico todos los pacientes fueron clasificados con un ECOG de 0 a 2; de ellos el 66% presentaban un ECOG 0.

155 son fumadores activos (con un consumo medio de 24.5 cigarrillos/día, mediano de 20cig/día, mínimo 0 - máximo 100) y 20 no fumadores.

La media del IPA es 29 paq/año; la mediana 20 paq/año (mínimo 0- máximo100). En 49 pacientes el IPA es menor a 20 y en 126 es mayor o igual a 20.

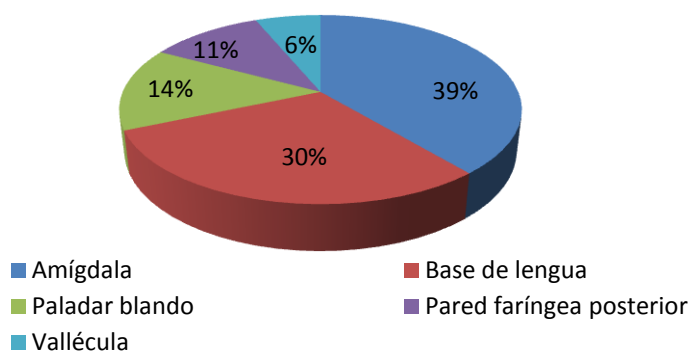


105 son consumidores de alcohol de forma moderada/severa.

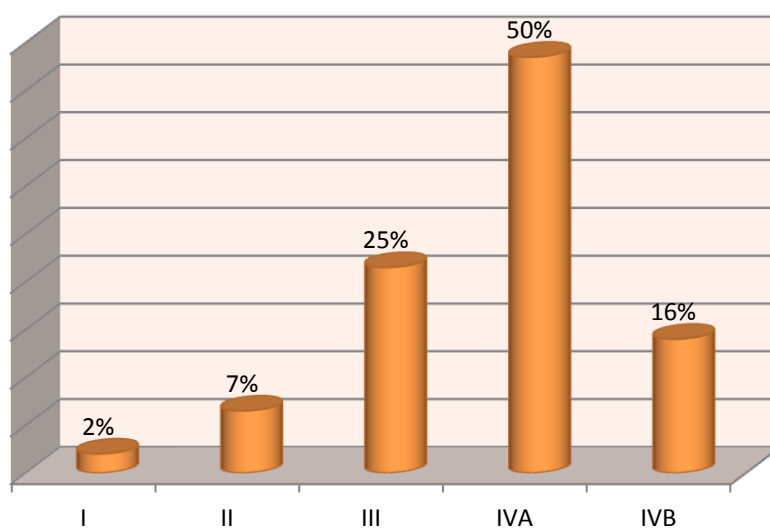
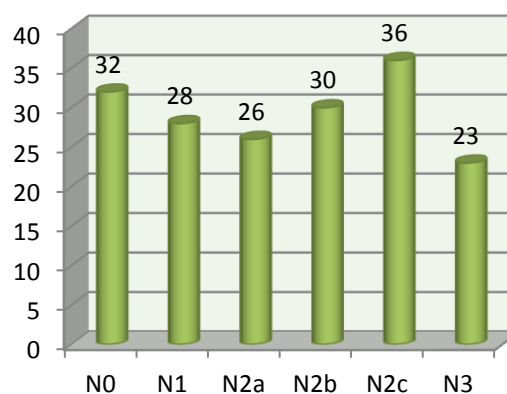
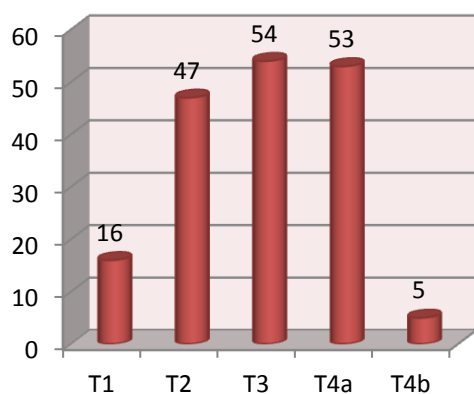


En cuanto a la localización del tumor, 68 pacientes (39%) presentan el tumor en amígdala, 52 (30%) en base de lengua, 25 (14%) en paladar blando, 19 (11%) en pared faríngea posterior y 11 (6%) en vallécula.

Localización



4 pacientes han sido diagnosticados en estadio I, 13 pacientes en estadio II, 43 pacientes en estadio III y 115 pacientes en estadio IV (87 estadio IVa y 28 estadio IVb).



Se han definido los siguientes grupos de riesgos:

- Bajo riesgo (T1-T3 N0-N2c)
- Localmente avanzado (T4 o N3)

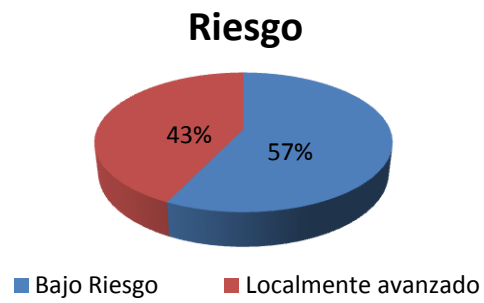


Tabla 1. Características de los pacientes

	n	%
Sexo		
Mujer	35	20%
Varón	140	80%
Edad		
< 50	38	21.7%
50-59	66	37.7%
60-69	46	26.3%
> o = 70	25	14.3%
ECOG		
0	115	65.7%
1	58	33.1%
2	2	1.1%
Tabaco		
No	20	11.4%
Sí	155	88.6%
IPA		
<20	49	28%
>= 20	126	72%
Alcohol moderado/severo		
No	7	40%
Sí	105	60%
Localización		
Amígdala	68	38.9%
Base de lengua	52	29.7%
Paladar blando	25	14.3%
Pared faríngea posterior	19	10.9%
Vallécula	11	6.3%
Estadío		
I	4	2.3%
II	13	7.4%
III	43	24.6%
IVA	87	49.7%
IVB	28	16%
T		
T1	16	9.1%
T2	47	26.9%
T3	54	30.9%
T4a	53	30.3%
T4b	5	2.9%
N		
N0	32	18.3%
N1	28	16%
N2a	26	14.9%
N2b	30	17.1%
N2c	36	20.6%
N3	23	13.1%
Grupos de riesgo		
Bajo riesgo (T1-T3 N0-N2c)	100	57.1%
Localmente avanzado (T4 o N3)	75	42.9%

En cuanto al tratamiento recibido, 159 (91%) pacientes han sido tratados con tratamiento conservador y 16 (9%) con cirugía.

En los pacientes operados, en todos los casos en el estudio anatomopatológico de la muestra se ha objetivado borde afecto por células tumorales y en 5 casos afectación ganglionar extracapsular.

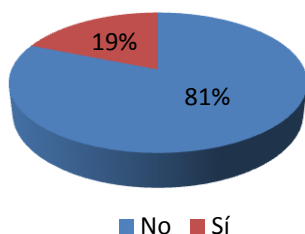
136 pacientes han sido tratados con técnicas de Radioterapia 3D y 39 IMRT. La mediana de dosis recibida ha sido 70 Gy, a 2Gy/fx en el caso de 3D y 66 Gy, a 2.2G/fx en el caso de IMRT.

142 (81%) paciente han recibido tratamiento quimioterápico.

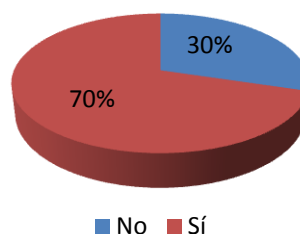
33 (19%) han recibido quimioterapia neoadyuvante, esquemas basados en Platinos-Taxanos-5Fluouracilo: 23 esquema TPF, 8 PF y 2 cisplatino en monoterapia.

124 (70%) han recibido quimioterapia concomitante con radioterapia: 100 basada en platinos y 24 en anticuerpos monoclonales (cetuximab, panitumumab).

Qt neoadyuvante

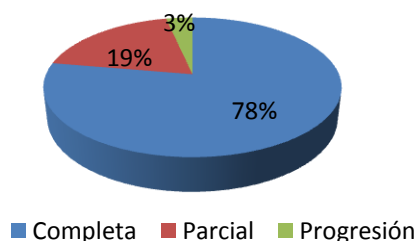


Qt concomitante



En la reevaluación post-tratamiento, en 136 (78%) pacientes se ha objetivado respuesta completa radiológica y clínica, en 33 (19%) respuesta parcial y en 6 (3%) pacientes se ha objetivado progresión de la enfermedad.

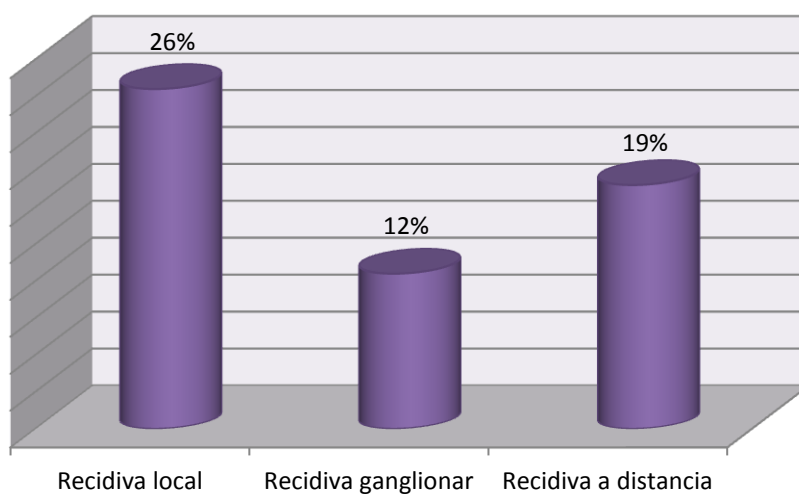
Respuesta



En 37 pacientes se ha practicado un vaciamiento de rescate posterior al tratamiento conservador.

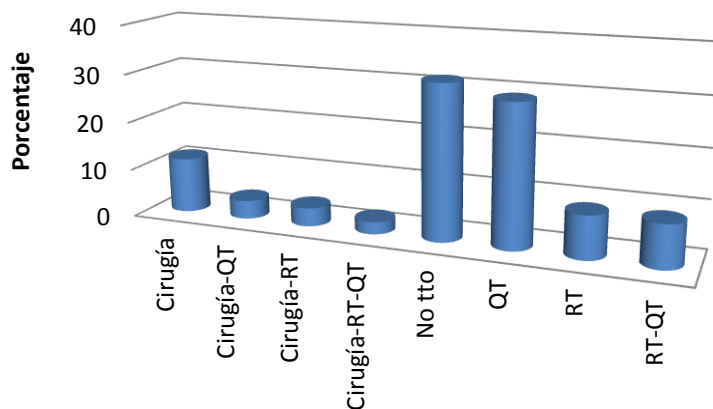
Han recidivado 78 pacientes (45%).

En 46 (26%) pacientes se ha objetivado recidiva local, en 21 (12%) recidiva ganglionar y en 33 (19%) pacientes a distancia. 59 pacientes (34%) presentaron recidiva local-ganglionar.



En 25 pacientes recidivados no se ha administrado ningún tratamiento radical. En 23 se ha administrado quimioterapia. 9 se han rescatado quirúrgicamente. 7 se han reirradiado. Y el resto han recibido tratamientos combinados.

Tratamiento de la recidiva



En el momento de finalización del seguimiento, 89 pacientes (51%) han fallecido:

- 66 muertos por la enfermedad oncológica
- 23 muertos sin enfermedad oncológica

Y 86 pacientes (49%) viven:

- 76 viven sin enfermedad
- 10 viven con enfermedad

Situación actual

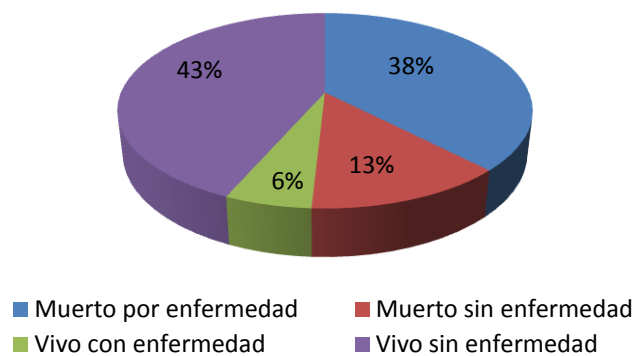


Tabla 2. Tratamiento

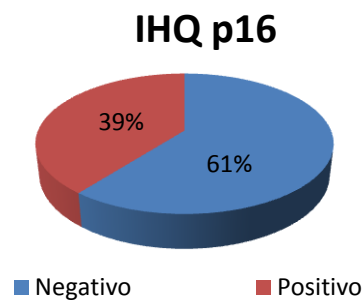
	n	%
Tipo de RT		
IMRT	39	22.3%
3D	136	77.7%
Quimioterapia		
No	32	18.3%
Sí	143	81.7%
Quimioterapia Neoadyuvante		
No	142	81.1%
Sí	33	18.9%
Quimioterapia Concomitante		
No	52	9.7%
Sí	123	70.3%
Vaciamiento de rescate		
No	138	78.9%
Sí	37	21.1%
Cirugía		
No	159	90.9%
Sí	16	9.1%

Tabla 3. Respuesta al tratamiento

	n	%
Respuesta		
Completa	136	77.7%
Parcial	33	18.9%
Progresión	6	3.4%
Recidiva		
No	97	55.4%
Sí	78	44.6%
Recidiva local		
No	129	73.7%
Sí	46	26.3%
Recidiva ganglionar		
No	154	88%
Sí	21	12%
Recidiva a distancia		
No	142	81.1%
Sí	33	18.9%
Situación actual		
Muerto por enfermedad	66	37.7%
Muerto sin enfermedad	23	13.1%
Vivo con enfermedad	10	5.7%
Vivo sin enfermedad	76	43.4%

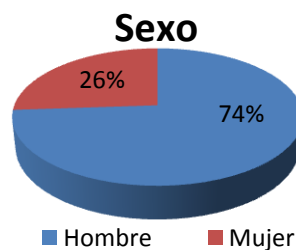
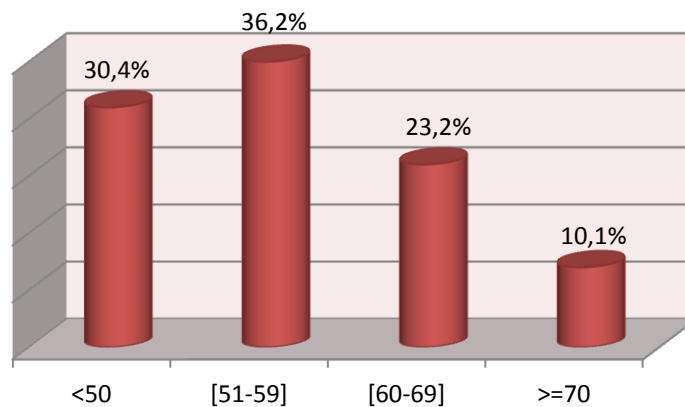
2. DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA POR HPV POSITIVO .

Al hacer el estudio inmunohistoquímico, 69 muestras han sido p16 positivas (39.4%) y 106 negativas (60.6%).



La edad mediana al diagnóstico es 55 años (mínimo 37- máximo 77 años) y la edad media 57 años.

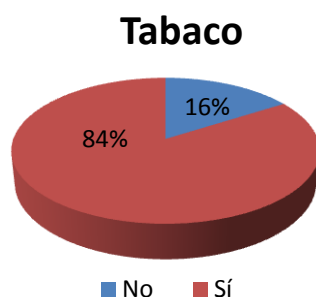
Por grupos de edad, la distribución se representa en el siguiente gráfico:



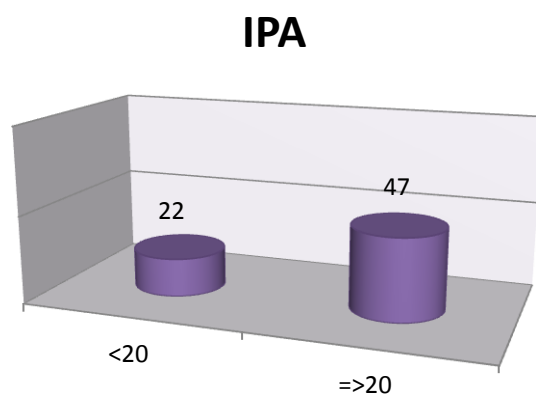
51 son varones y 18 mujeres.

En el momento del diagnóstico 43 pacientes fueron clasificados con un ECOG de 0; 25 con un ECOG de 1 y 1 paciente con un ECOG 2.

58 son fumadores activos (con un consumo medio de 22 cigarrillos/día, mediano de 20 cigarrillos/día, mínimo 0-máximo 60) y 11 no fumadores.

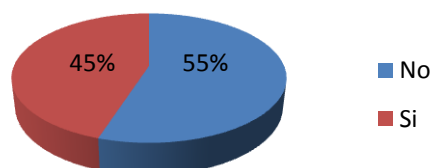


La media del IPA es 29 paquete/año, la mediana 20 paquete/año (mínimo 0-máximo 100).

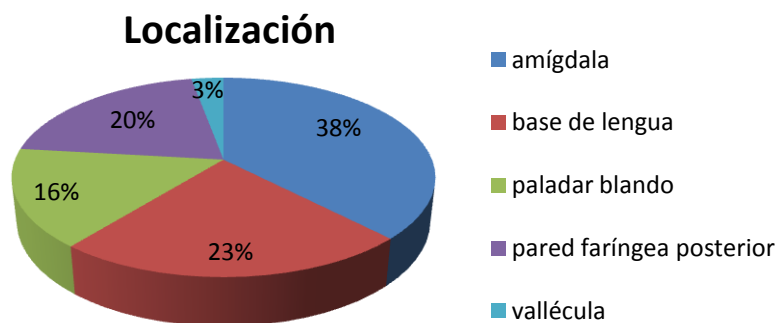


31 son consumidores de alcohol de forma moderada/severa.

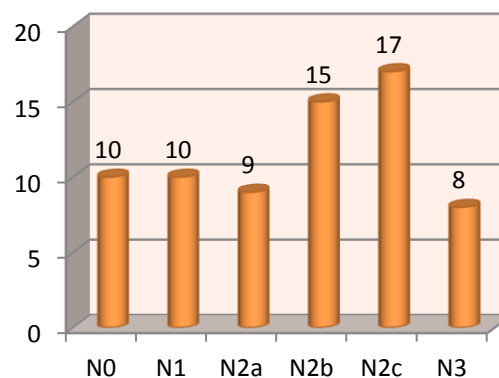
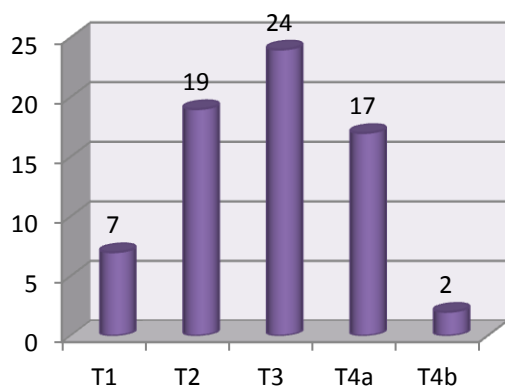
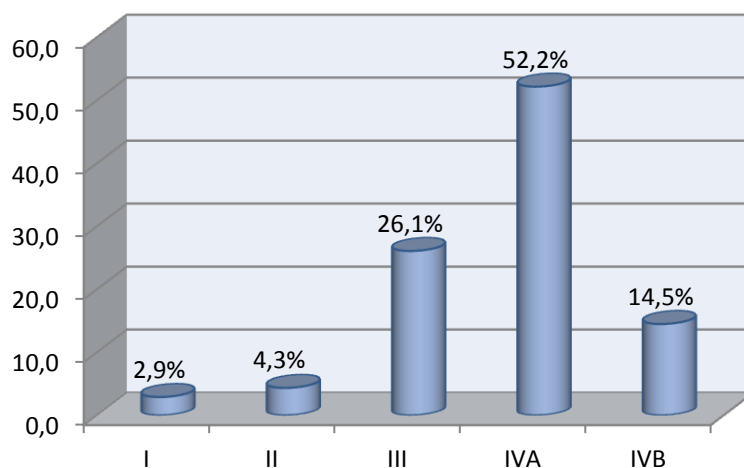
Alcohol mod sev



En cuanto a la localización del tumor, 26 pacientes (37.7%) presentaban el tumor en amígdala, 16 (23.2%) en base de lengua, 14 (20.3%) en pared faríngea posterior, 11 (15.9%) en paladar blando y 2 (2.9%) en vallécula.



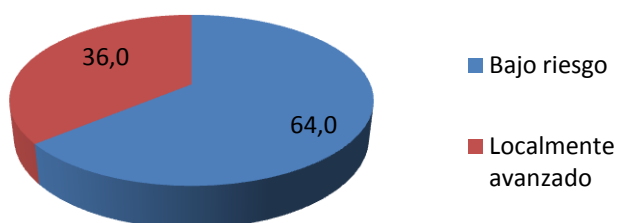
2 pacientes han sido diagnosticados en estadio I, 3 pacientes en estadio II, 18 pacientes en estadio III y 46 pacientes en estadio IV (36 estadio IVa y 10 estadio IVb).



Los pacientes se han clasificado por grupos de riesgo:

- Bajo riesgo (T1-T3 N0-N2c): 44 pacientes, 63.8%
- Localmente avanzado (T4 o N3): 25 pacientes, 36.2%

Riesgo



En cuanto al tratamiento recibido, 66 (95.7%) pacientes han sido tratados con tratamiento conservador y 3 (4.3%) con cirugía.

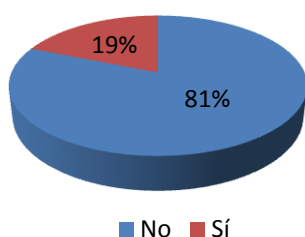
44 pacientes han sido tratados con técnicas de Radioterapia 3D y 25 IMRT.

61 paciente han recibido tratamiento quimioterápico.

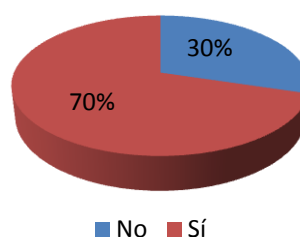
16 (23.2%) han recibido quimioterapia neoadyuvante, esquemas basados en Platinos-Taxanos-5Fluouracilo: 14 esquema TPF y 2 PF.

56 (81.2%) han recibido quimioterapia concomitante con radioterapia: 40 basada en platinos y 16 en anticuerpos monoclonales (cetuximab).

Qt neoadyuvante



Qt concomitante

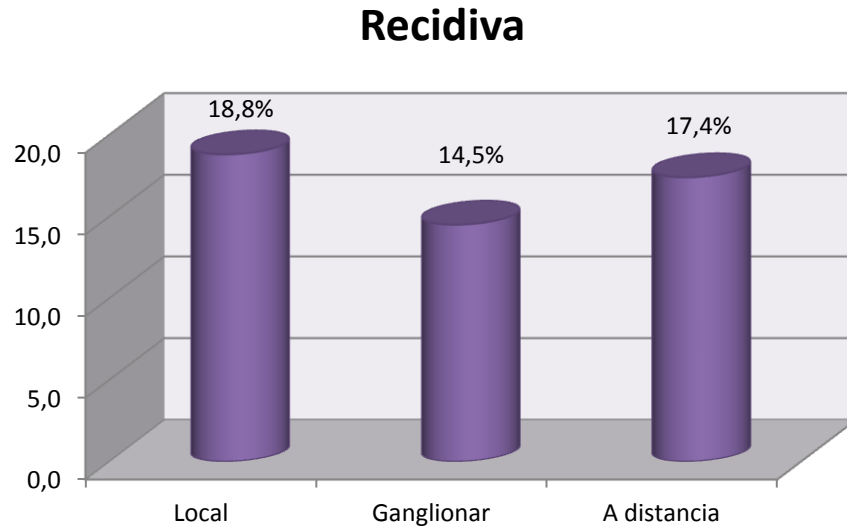


En la reevaluación post-tratamiento, en 51 (73.9%) pacientes se ha objetivado respuesta completa radiológica y clínica, en 16 (23.2%) respuesta parcial y en 2 (2.9%) pacientes se ha objetivado progresión de la enfermedad.

En 14 pacientes se ha practicado un vaciamiento de rescate posterior al tratamiento conservador.

Han recidivado 27 pacientes (39.1%).

En 13 (18.8%) pacientes se ha objetivado recidiva local, en 10 (14.5%) recidiva ganglionar y en 12 (17.4%) pacientes a distancia.



En el momento de finalización del seguimiento, 29 pacientes (42%) habían fallecido:

- 21 muertos por la enfermedad oncológica
- 8 muertos sin enfermedad oncológica

Y 40 pacientes (57.9%) viven:

- 35 viven sin enfermedad
- 5 viven con enfermedad

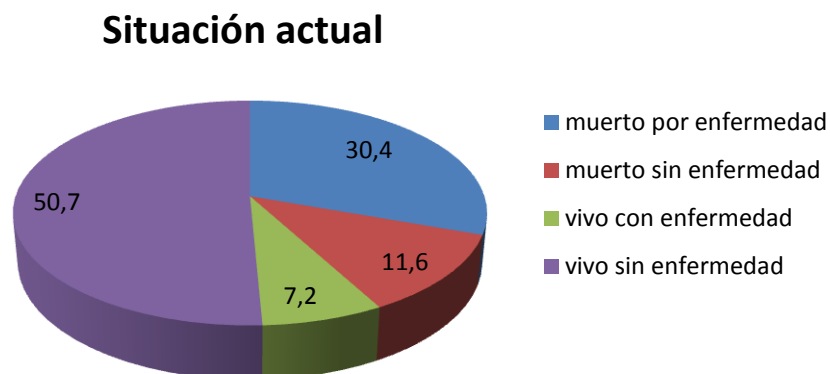


Tabla 4. Características de los pacientes HPV +

	n	%
Sexo		
Mujer	18	26.1%
Varón	51	73.9%
Edad		
< 50	21	30.4%
50-59	25	36.2%
60-69	16	23.2%
> o = 70	7	10.1%
ECOG		
0	42	60.9%
1	25	36.2%
2	2	2.8%
Tabaco		
No	11	15.9%
Sí	58	84.1%
IPA		
<20	22	31.9%
>= 20	47	68.1%
Alcohol moderado/severo		
No	38	55.1%
Sí	31	44.9%
Localización		
Amígdala	26	37.7%
Base de lengua	16	23.2%
Paladar blando	11	15.9%
Pared faríngea posterior	14	20.3%
Vallécula	2	2.9%
Estadío		
I	2	2.9%
II	3	4.3%
III	18	26.1%
IVA	36	52.2%
IVB	10	14.5%
T		
T1	7	10.1%
T2	19	27.5%
T3	24	34.8%
T4a	17	24.6%
T4b	2	2.9%
N		
N0	10	14.5%
N1	10	14.5%
N2a	9	13%
N2b	15	21.7%
N2c	17	24.6%
N3	8	11.6%
Grupos de riesgo		
Bajo riesgo (T1-T3 N0-N2c)	44	63.8%
Localmente avanzado (T4 o N3)	25	36.2%

Tabla 5. Tratamiento de pacientes HPV+

	n	%
Tipo de RT		
IMRT	25	36.2%
3D	44	63.8%
Quimioterapia		
No	8	11.6%
Sí	61	88.4%
Quimioterapia Neoadyuvante		
No	53	76.8%
Sí	16	23.2%
Quimioterapia Concomitante		
No	13	18.8%
Sí	56	81.2%
Vaciamiento de rescate		
No	55	79.7%
Sí	14	20.3%
Cirugía		
No	66	95.7%
Si	3	4.3%

Tabla 6. Respuesta al tratamiento de pacientes HPV+

	n	%
Respuesta		
Completa	51	73.9%
Parcial	16	23.2%
Progresión	2	2.9%
Recidiva		
No	42	60.9%
Sí	27	39.1%
Recidiva local		
No	56	81.2%
Sí	13	18.8%
Recidiva ganglionar		
No	59	85.5%
Sí	10	14.5%
Recidiva a distancia		
No	57	82.6%
Sí	12	17.4%
Situación actual		
Muerto por enfermedad	21	30.4%
Muerto sin enfermedad	8	11.6%
Vivo con enfermedad	5	7.2%
Vivo sin enfermedad	35	50.7%

Tabla 7. Características de los pacientes HPV -

	n	%
Sexo		
Mujer	17	16%
Varón	89	84%
Edad		
< 50	17	16%
50-59	41	38.7%
60-69	30	28.3%
> o = 70	18	17%
ECOG		
0	72	67.9%
1	33	31.1%
2	1	1%
Tabaco		
No	9	8.5%
Sí	97	91.5%
IPA		
<20	27	25.5%
>= 20	79	74.5%
Alcohol moderado/severo		
No	32	30.2%
Sí	74	69.8%
Localización		
Amígdala	42	39.6%
Base de lengua	36	34%
Paladar blando	14	13.2%
Pared faríngea posterior	5	4.7%
Vallécula	9	8.5%
Estadío		
I	2	1.9%
II	10	9.4%
III	25	23.6%
IVA	51	48.1%
IVB	18	17%
T		
T1	9	8.5%
T2	28	26.4%
T3	30	28.3%
T4a	36	34%
T4b	3	2.8%
N		
N0	22	20.8%
N1	18	17%
N2a	17	16%
N2b	15	14.2%
N2c	19	17.9%
N3	15	14.2%
Grupos de riesgo		
Bajo riesgo (T1-T3 N0-N2c)	56	52.8%
Localmente avanzado (T4 o N3)	50	47.2%

Tabla 8. Tratamiento de pacientes HPV-

	n	%
Tipo de RT		
IMRT	14	13.2%
3D	92	86.8%
Quimioterapia		
No	24	22.6%
Sí	82	77.4%
Quimioterapia Neoadyuvante		
No	89	84%
Sí	17	16%
Quimioterapia Concomitante		
No	39	36.8%
Sí	67	63.2%
Vaciamiento de rescate		
No	83	78.3%
Sí	23	21.7%
Cirugía		
No	93	87.7%
Si	13	12.3%

Tabla 9. Respuesta al tratamiento de pacientes HPV-

	n	%
Respuesta		
Completa	85	80.2%
Parcial	17	16%
Progresión	4	3.8%
Recidiva		
No	55	51.9%
Sí	51	48.1%
Recidiva local		
No	73	68.9%
Sí	33	31.1%
Recidiva ganglionar		
No	95	89.6%
Sí	11	10.4%
Recidiva a distancia		
No	85	80.2%
Sí	21	19.8%
Situación actual		
Muerto por enfermedad	45	42.5%
Muerto sin enfermedad	15	14.2%
Vivo con enfermedad	5	4.7%
Vivo sin enfermedad	41	38.7%

Tabla 10. Características de los pacientes por tipo HPV-/HPV+

	HPV-		HPV +		p
	n	%	n	%	
Sexo					
Mujer	17	48.6%	18	51.4%	0.123
Varón	89	63.6%	51	36.4%	
Edad					
< 50	17	44.7%	21	55.3%	0.027
50-59	41	62.1%	25	37.9%	
60-69	30	65.2%	16	34.8%	
> o = 70	18	72%	7	28%	
ECOG					
0	72	63.2%	42	36.8%	0.399
1	33	56.9%	25	43.1%	
2	1	33.3%	2	66.7%	
Tabaco					
No	9	45%	11	55%	0.149
Sí	97	62.6%	58	37.4%	
IPA					
<20	27	55.1%	22	44.9%	0.391
>= 20	79	62.75	47	37.3%	
Alcohol moderado/severo					
No	32	45.7%	38	54.3%	0.002
Sí	74	70.5%	31	29.5%	
Localización					
Amígdala	42	61.8%	26	38.2%	0.321
Base de lengua	36	69.2%	16	30.8%	
Paladar blando	14	56%	11	44%	
Pared faríngea posterior	5	26.3%	14	73.7%	
Vallécula	9	81.8%	2	18.2%	
Estadio					
I	2	50%	2	50%	0.929
II	10	76.9%	3	23.1%	
III	25	58.1%	18	41.9%	
IVA	51	58.6%	36	41.4%	
IVB	18	64.3%	10	35.7%	
T					
T1	9	56.3%	7	43.8%	0.362
T2	28	59.6%	19	40.4%	
T3	30	55.6%	24	44.4%	
T4a	36	67.9%	17	32.1%	
T4b	3	60%	2	40%	
N					
N0	22	68.8%	10	31.3%	0.291
N1	18	64.3%	10	35.7%	
N2a	17	65.4%	9	34.6%	
N2b	15	50%	15	50%	
N2c	19	52.8%	17	47.2%	
N3	15	65.2%	8	34.8%	
Grupos de riesgo					
Bajo riesgo (T1-T3 N0-N2c)	56	56%	44	44%	0.163
Localmente avanzado (T4oN3)	50	66.7%	25	33.3%	

	HPV-		HPV +		p
	n	%	n	%	
Quimioterapia					
No	24	75%	8	25%	0.074
Sí	82	57.3%	61	42.7%	
QT Neoadyuvante					
No	89	62.7%	53	37.3%	0.243
Sí	17	51.5%	16	48.5%	
QT Concomitante					
No	39	75%	13	25%	0.012
Sí	67	54.5%	56	45.5%	
Vaciamiento de rescate					
No	83	60.1%	55	39.9%	0.852
Sí	23	62.2%	14	37.8%	
Cirugía					
No	93	58.5%	66	41.5%	0.107
Si	13	81.2%	3	18.8%	

	HPV-		HPV +		p
	n	%	n	%	
Respuesta					
Completa	85	62.5%	51	37.5%	0.487
Parcial	17	51.5%	16	48.5%	
Progresión	4	66.7%	2	33.3%	
Recidiva					
No	55	56.7%	42	43.3%	0.277
Sí	51	65.4%	27	34.6%	
Recidiva local					
No	73	56.6%	56	43.4%	0.081
Sí	33	71.7%	13	28.3%	
Recidiva ganglionar					
No	95	61.7%	59	38.3%	0.478
Sí	11	52.4%	10	47.6%	
Recidiva a distancia					
No	85	59.9%	57	40.1%	0.844
Sí	21	63.6%	12	36.4%	
Exitus					
No	46	53.5%	40	46.5%	0.065
Sí	60	67.4%	29	32.6%	
Situación actual					
Muerto por enfermedad	45	68.2%	21	31.8%	0.299
Muerto sin enfermedad	15	65.2%	8	34.8%	
Vivo con enfermedad	5	50%	5	50%	
Vivo sin enfermedad	41	53.9%	35	46.1%	

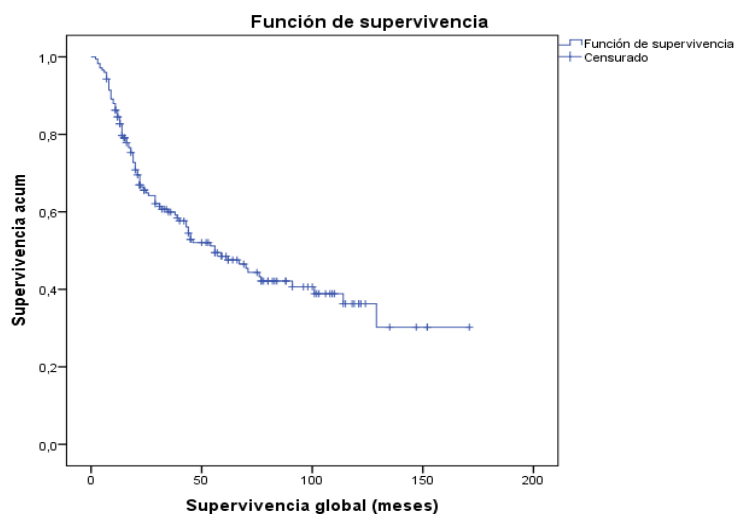
3. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA DE LA MUESTRA

Todos los análisis de Supervivencia se han realizado mediante el análisis de Kaplan Meier .

A) Supervivencia Global

Analizando los 175 pacientes de la muestra, y siendo el evento la variable *Éxito*, se ha obtenido una supervivencia global:

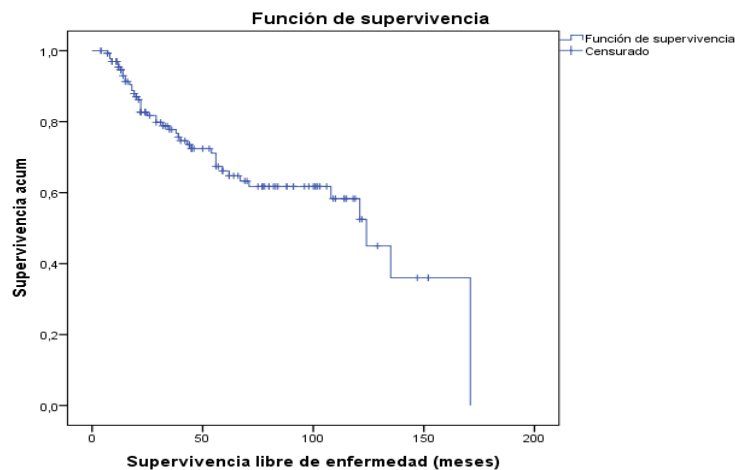
- A los 2 años: 65.6%
- A los 3 años: 59.9%
- A los 5 años: 48.5%



B) Supervivencia Libre de Enfermedad

Se ha definido la Supervivencia Libre de Enfermedad a la Supervivencia en los pacientes post-quirúrgicos o en los que en la reevaluación tras el tratamiento se ha objetivado una respuesta completa (n= 126). El evento ha sido la variable *Recidiva*. Los resultados obtenidos:

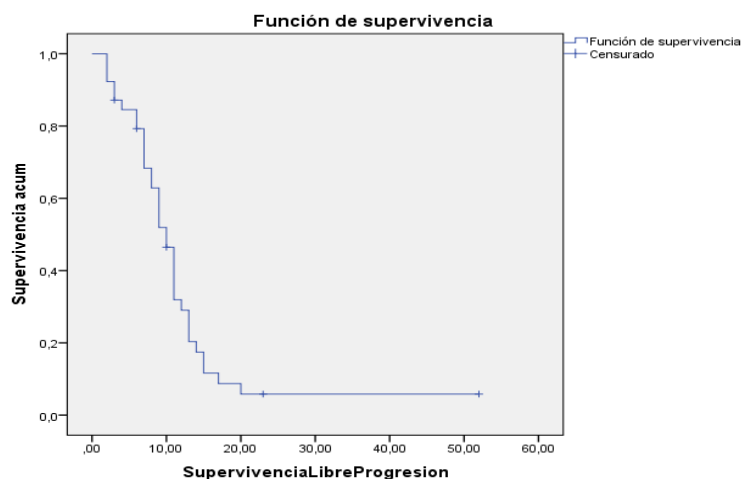
- A los 2 años: 82.7%
- A los 3 años: 77.8%
- A los 5 años: 66.1%



C) Supervivencia Libre de Progresión

Definida como la Supervivencia en los pacientes que tras el tratamiento conservador se objetivó Respuesta Parcial o Progresión. Han sido 39 pacientes. El evento ha sido la variable *Recidiva* (se recogió como fecha de recidiva la fecha en la que se objetivó la progresión). Los resultados obtenidos:

- A los 12 meses: 29%
- A los 24 meses: 5.8%

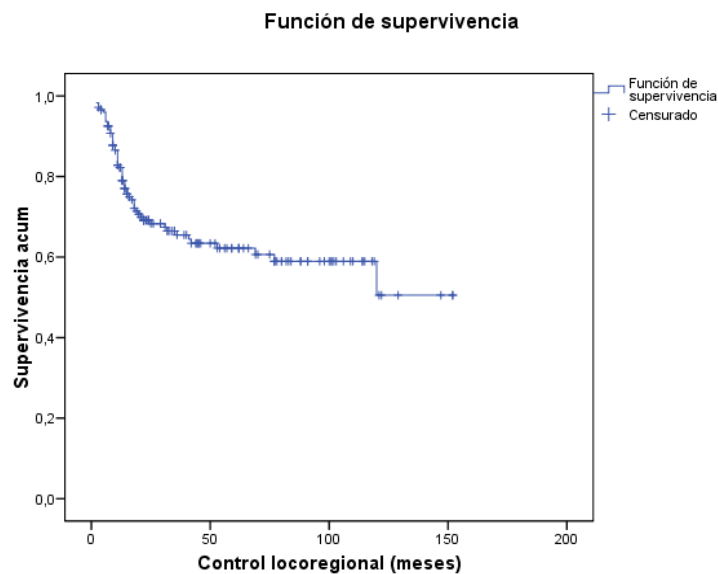


D)Control Loco-regional

Definido como el periodo de tiempo transcurrido entre la fecha de diagnóstico y la fecha de recidiva local o ganglionar en los pacientes que han presentado el evento o entre la fecha de diagnóstico y fecha de último seguimiento en los pacientes que no lo han presentado. Se creó para ello una variable denominada Recidiva local-ganglionar, que adoptó el valor positivo en el caso de que algunas de las variables previas fuera positiva. Ésta ha sido el evento.

Los resultados obtenidos:

- A los 2 años: 82.2%
- A los 3 años: 69.1%
- A los 5 años: 62.1%

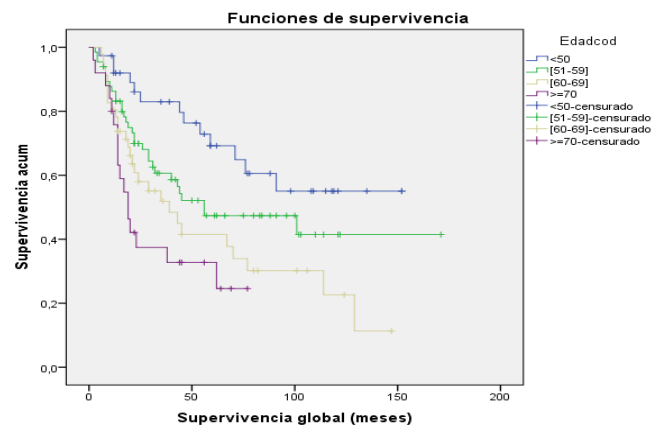


4. ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LA SUPERVIVENCIA

Grupos de Edad

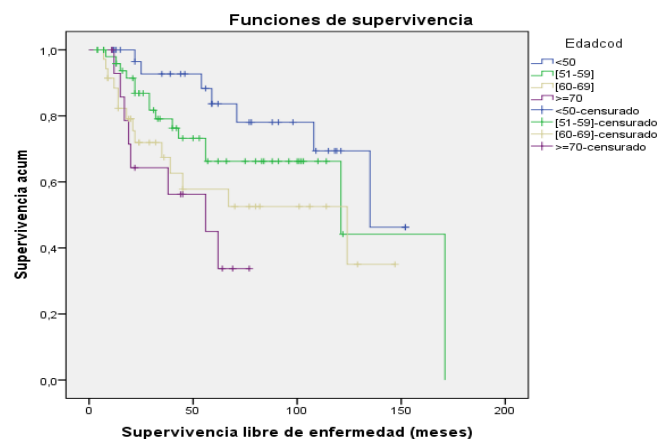
Supervivencia Global:

	≤ 50	51-59	60-69	≥ 70	p 0.001
A 3 años	83%	60.7%	51.9%	37.4%	
A 5 años	69.2%	47.4%	41.5%	32.7%	



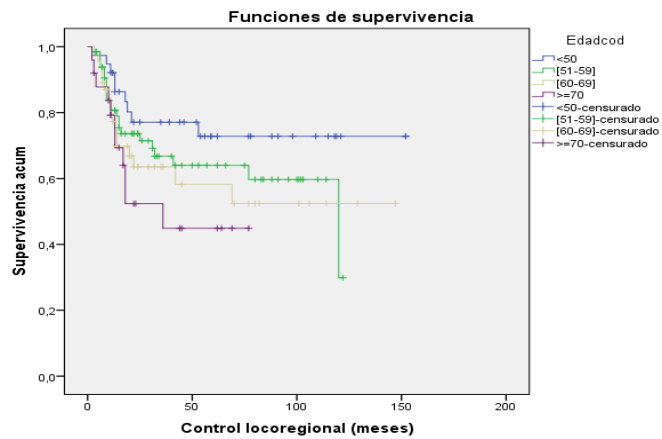
Supervivencia Libre de Enfermedad:

	≤ 50	51-59	60-69	≥ 70	p 0.019
A 3 años	92.7%	79.1%	67.4%	64.3%	
A 5 años	83.7%	66.3%	57.8%	45%	

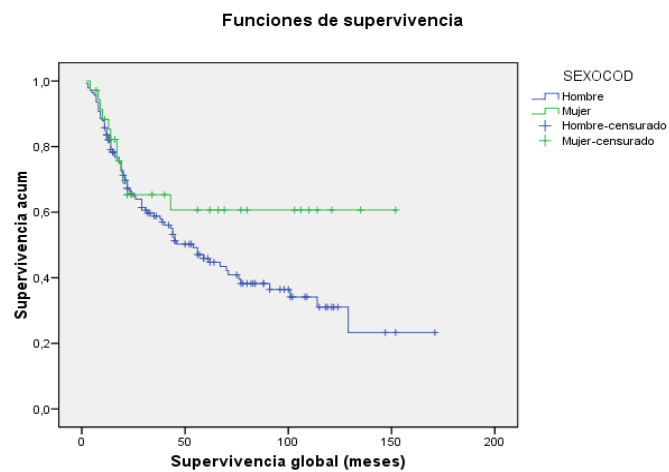


Control Loco-regional:

	<=50	51-59	60-69	>=70	p 0.132
A 3 años	77.1%	66.8%	63.55	52.4%	
A 5 años	72.8%	64%	58.2%	44.9%	

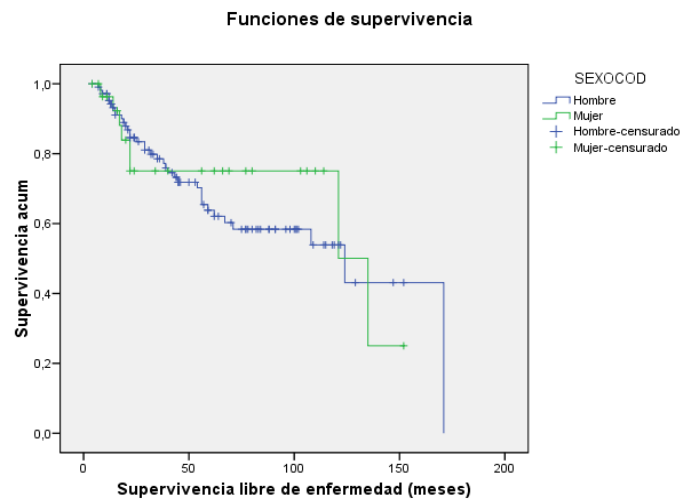
**Sexo****Supervivencia Global:**

	Hombre	Mujer	p 0.116
A 3 años	58.8%	65%	
A 5 años	45.9%	60%	

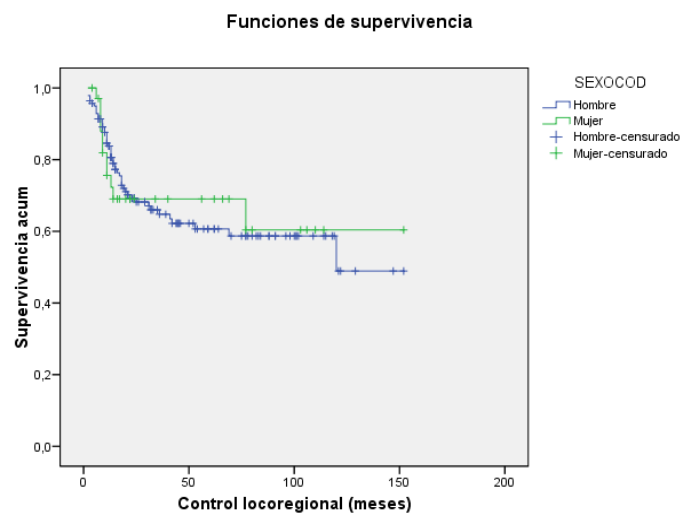


Supervivencia Libre de Enfermedad:

	Hombre	Mujer	p 0.667
A 3 años	78.5%	78.5%	
A 5 años	63.8%	75.1%	

**Control Loco-regional:**

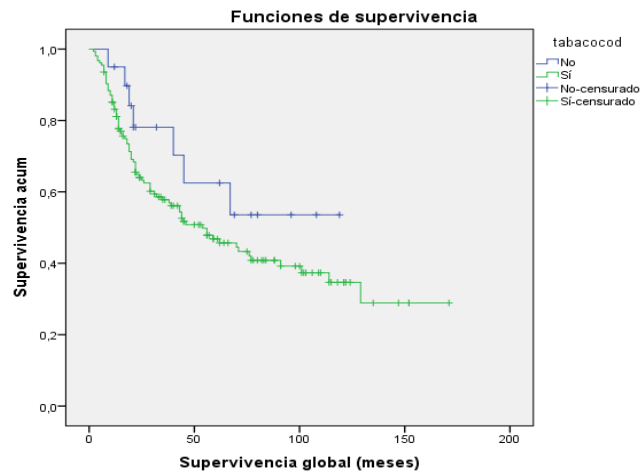
	Hombre	Mujer	p 0.936
A 3 años	64.7%	69%	
A 5 años	60.7%	69%	



Tabaco

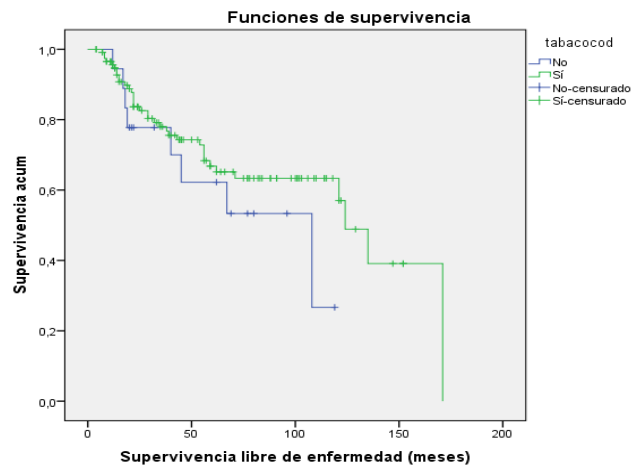
Supervivencia Global:

	No	Sí	p 0.190
A 3 años	78.1%	57.8%	
A 5 años	62.5%	46.8%	



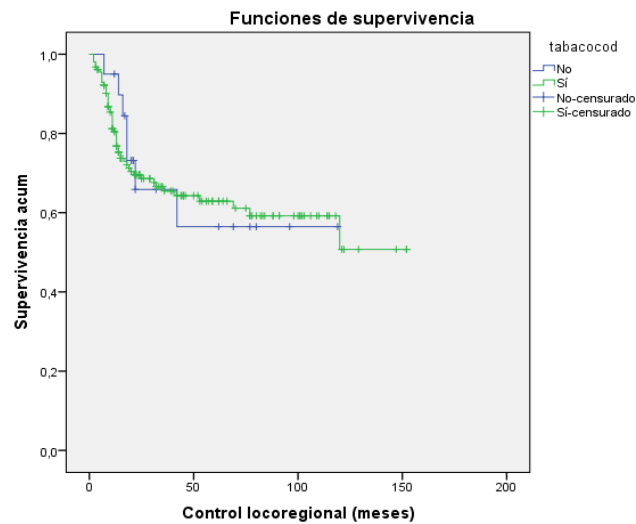
Supervivencia Libre de Enfermedad:

	No	Sí	p 0.258
A 3 años	77.8%	78%	
A 5 años	62.2%	66.8%	

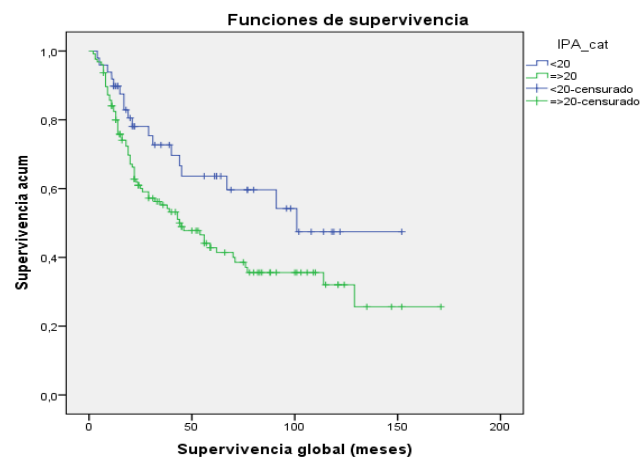


Control Loco-regional:

	No	Sí	p 0.861
A 3 años	65.9%	65.5%	
A 5 años	56.5%	62.9%	

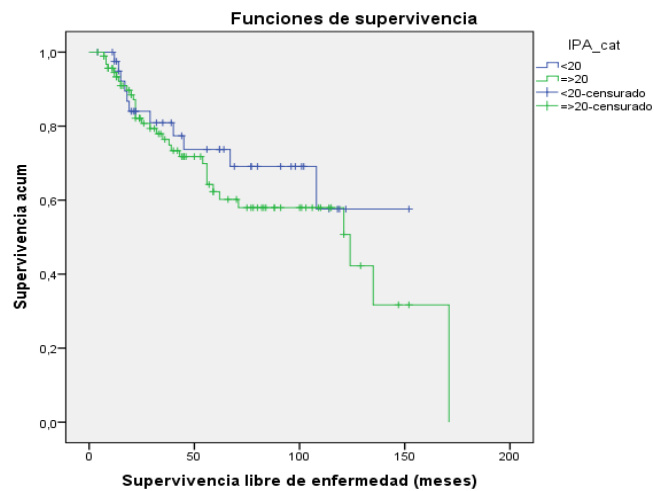
**IPA****Supervivencia Global:**

	IPA <20	IPA ≥20	p 0.032
A 3 años	72.7%	55.2%	
A 5 años	63.6%	42.8%	

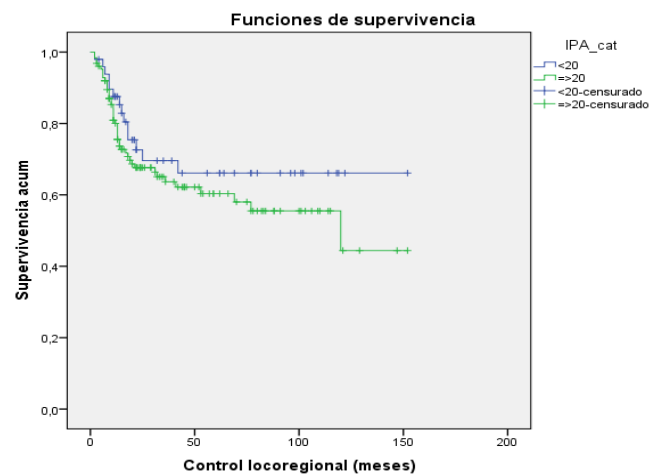


Supervivencia Libre de Enfermedad:

	IPA <20	IPA ≥20	p 0.415
A 3 años	80.9%	76.4%	
A 5 años	73.7%	62.3%	

**Control Loco-regional:**

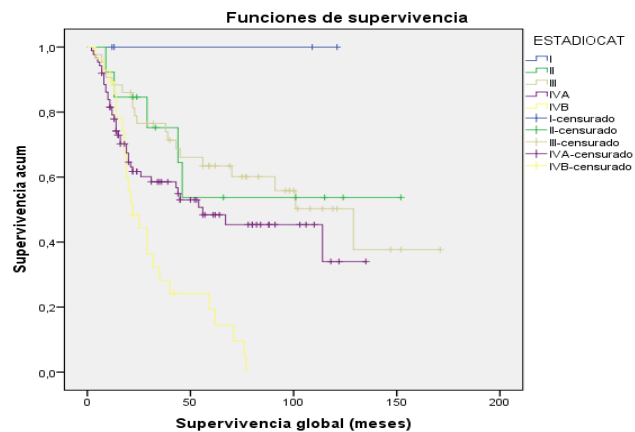
	IPA <20	IPA ≥20	p 0.273
A 3 años	69.6%	63.7%	
A 5 años	66.1%	60.3%	



Estadio

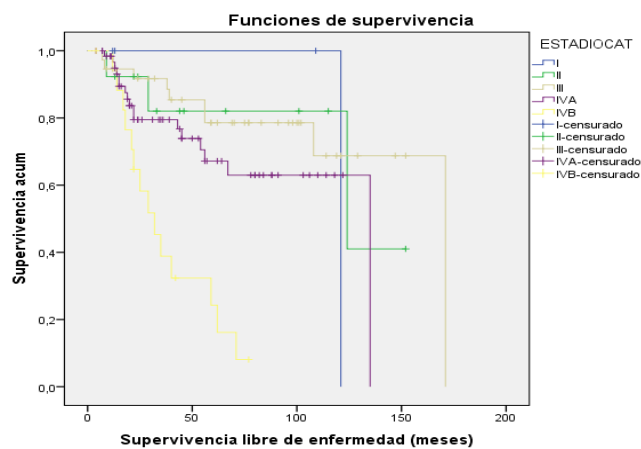
Supervivencia Global:

	I	II	III	IVA	IVB	p 0.000
A 3 años	100%	75.2%	76.5%	58.5%	28.2%	
A 5 años	100%	53.7%	63.5%	48.4%	19.3%	



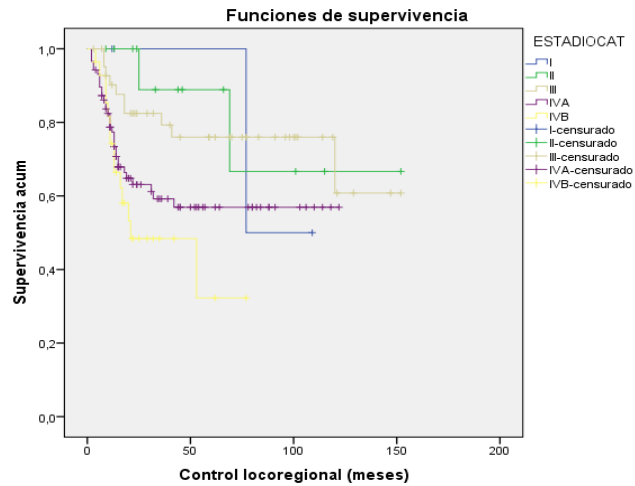
Supervivencia Libre de Enfermedad:

	I	II	III	IVA	IVB	p 0.000
A 3 años	100%	92.3%	91.7%	79.5%	38.8%	
A 5 años	100%	82.1%	78.6%	67.2%	24.3%	

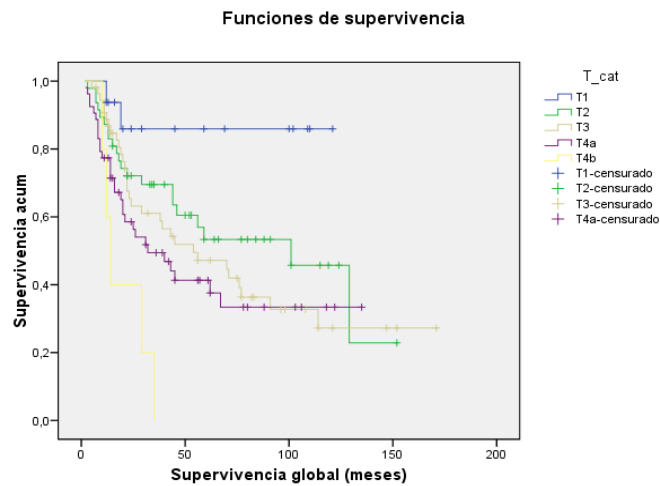


Control Loco-regional:

	I	II	III	IVA	IVB	p 0.016
A 3 años	100%	88.9%	79.3%	59.2%	48.4%	
A 5 años	100%	76.7%	76%	56.9%	32.3%	

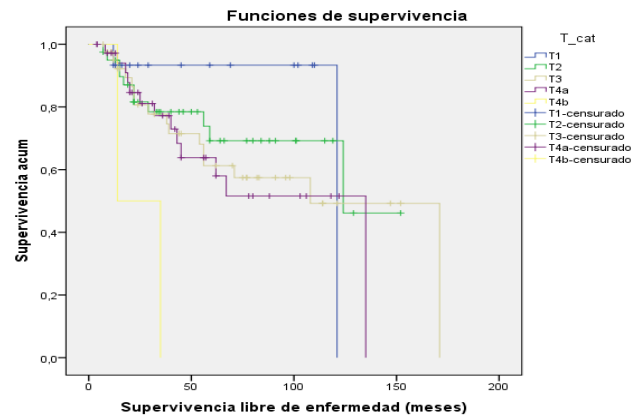
**T****Supervivencia Global:**

	T1	T2	T3	T4a	T4b	p 0.002
A 3 años	85.9%	69.5%	61%	49.4%	20%	
A 5 años	85.9%	53.4%	47.2%	41.3%	0%	

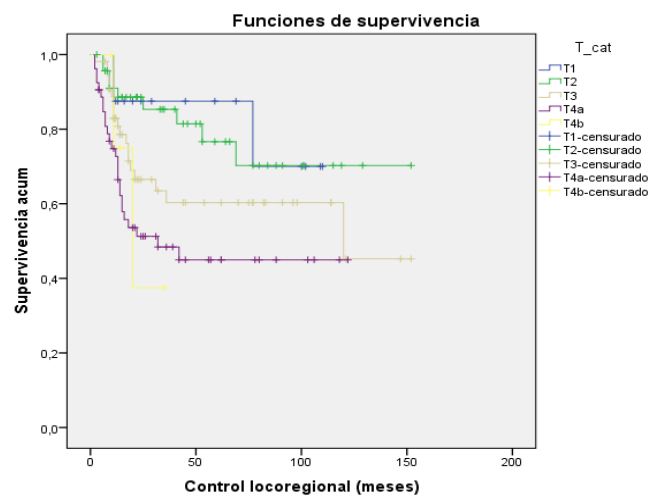


Supervivencia Libre de Enfermedad:

	T1	T2	T3	T4a	T4b	p 0.023
A 3 años	93.3%	78.4%	77.7%	77.2%	50%	
A 5 años	93.3%	69.2%	61.3%	63.8%	0%	

**Control Loco-regional:**

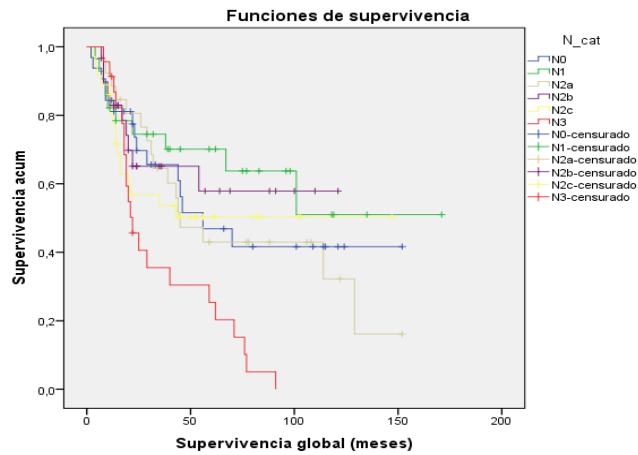
	T1	T2	T3	T4a	T4b	p 0.008
A 3 años	87.5%	85.3%	63.5%	48.4%	37.5%	
A 5 años	70%	76.6%	60.3%	45%	0%	



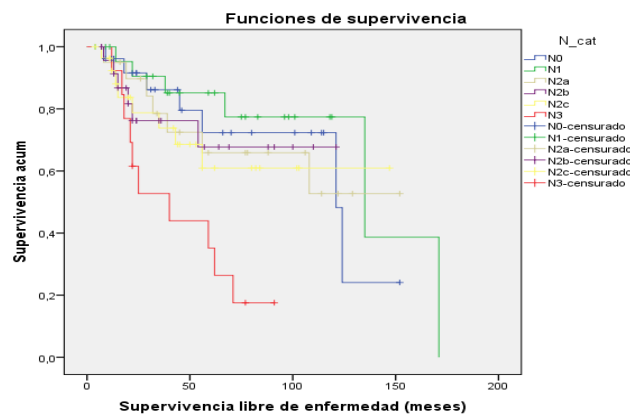
N

Supervivencia Global:

	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	p 0.008
3 años	65.6%	74.5%	64.5%	65.1%	53.7%	35.5%	
5 años	46.9%	70.1%	43%	57.9%	50.3%	25.4%	

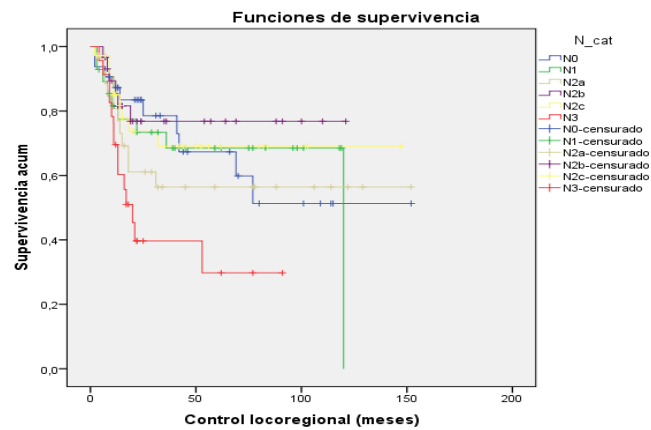
**Supervivencia Libre de Enfermedad:**

	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	p 0.013
3 años	86.2%	90.5%	78.5%	76.2%	73.8%	52.7%	
5 años	72.3%	85.2%	65.9%	67.7%	60.9%	35.2%	

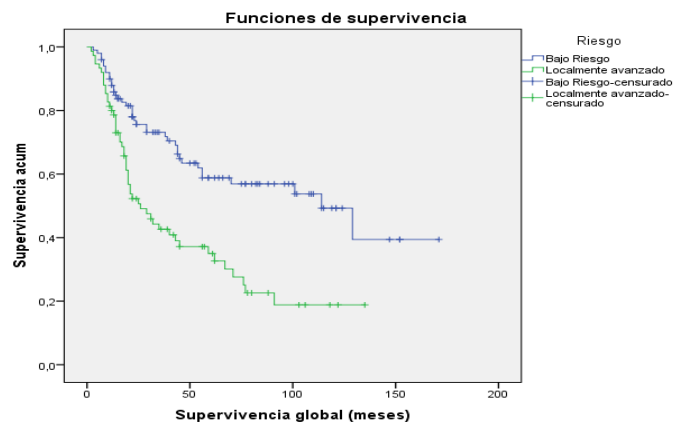


Control Loco-regional:

	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	p 0.045
3 años	78.6%	73.4%	56.4%	76.8%	73.7%	39.7%	
5 años	67.3%	68.5%	56.4%	76.8%	69.1%	29.8%	

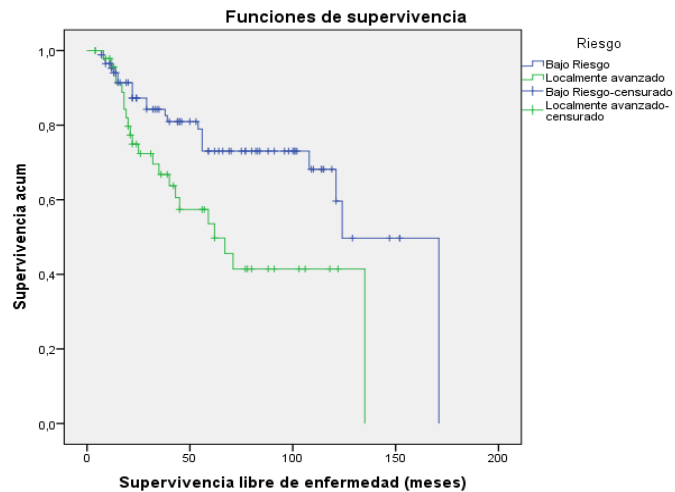
**Grupos de Riesgo****Supervivencia Global:**

	Bajo Riesgo	Localmente avanzado	p 0.000
A 3 años	73.1%	42.6%	
A 5 años	58.8%	35%	

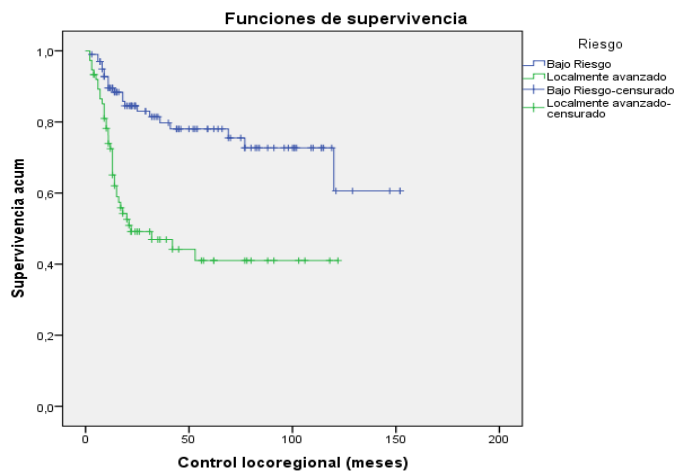


Supervivencia Libre de Enfermedad:

	Bajo Riesgo	Localmente avanzado	p 0.005
A 3 años	84.2%	66.8%	
A 5 años	73%	53.6%	

**Control Loco-regional:**

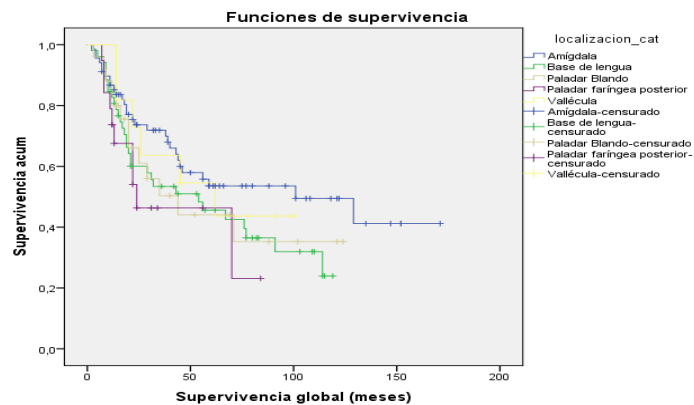
	Bajo Riesgo	Localmente avanzado	p 0.000
A 3 años	79.8%	46.9%	
A 5 años	78%	41%	



Localización

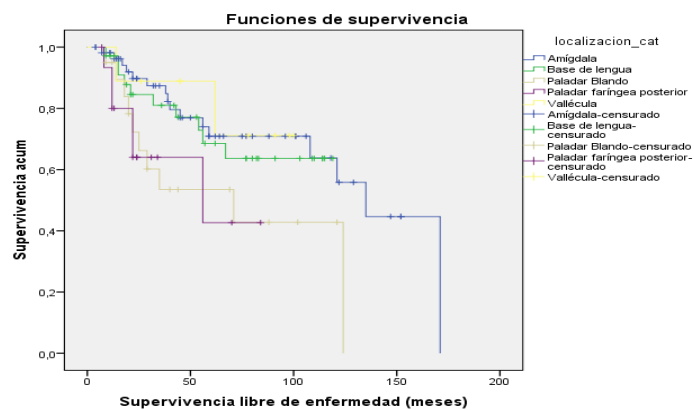
Supervivencia Global:

	Amígdala	Base de lengua	Paladar blando	Pared faríngea posterior	Vallécula	p 0.262
3 años	71.9%	53.4%	50.3%	46.3%	63.6%	
5 años	53.5%	45.6%	44.1%	23.2%	54.5%	



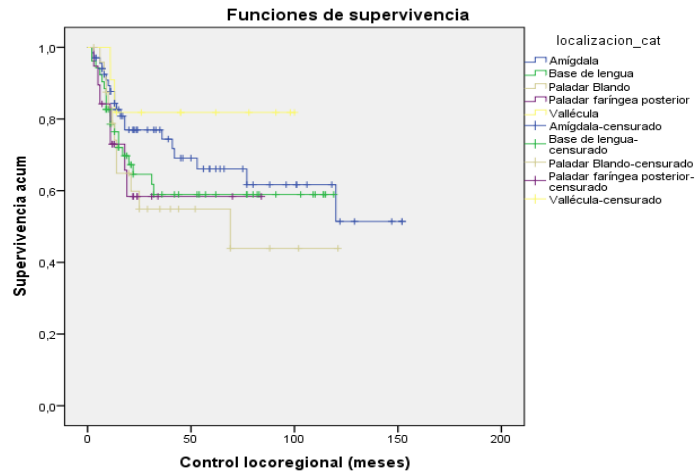
Supervivencia Libre de Enfermedad:

	Amígdala	Base de lengua	Paladar blando	Pared faríngea posterior	Vallécula	p 0.063
3 años	87.4%	81%	60.2%	64%	88.9%	
5 años	70.9%	68.5%	53.5%	42.7%	71.1%	

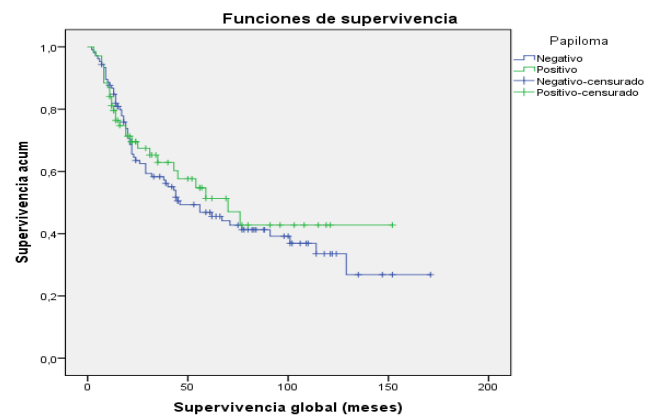


Control Loco-regional:

	Amígdala	Base de lengua	Paladar blando	Pared faríngea posterior	Vallécula	p 0.372
3 años	74.4%	58.9%	54.9%	58.4%	81.8%	
5 años	66.1%	58.9%	43.9%	58.45	81.8%	

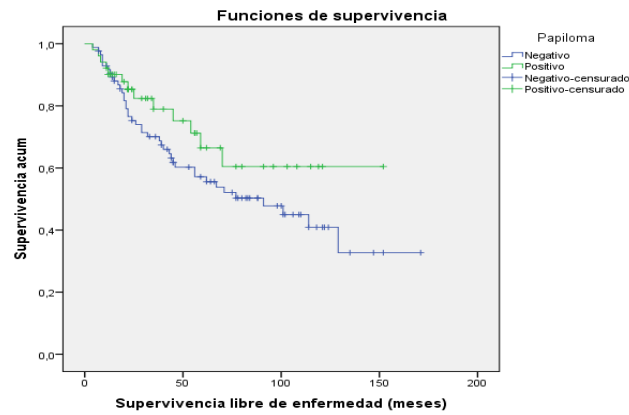
**p16 IHQ****Supervivencia Global:**

	p16-	p16+	p 0.566
A 3 años	58.3%	62.9%	
A 5 años	46.9%	51.3%	

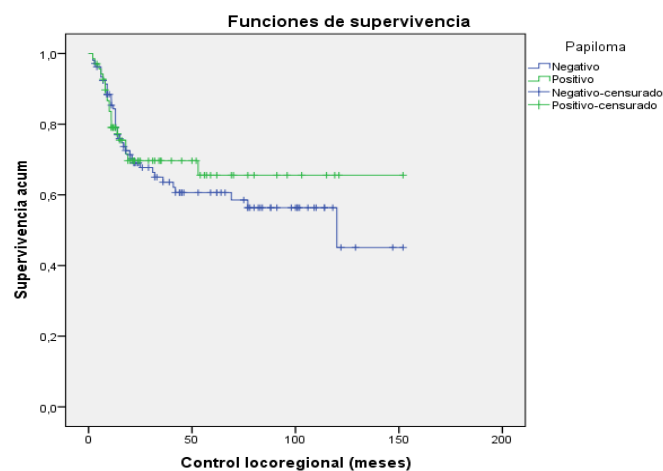


Supervivencia Libre de Enfermedad:

	p16-	p16+	p 0.157
A 3 años	70.1%	79%	
A 5 años	57.2%	66.5%	

**Control Loco-regional:**

	p16-	p16+	p 0.602
A 3 años	63.6%	69.7%	
A 5 años	60.6%	65.6%	



En el análisis de las tres supervivencias se ve como en el grupo HPV+ la supervivencia a 3 y 5 años es mayor, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa.

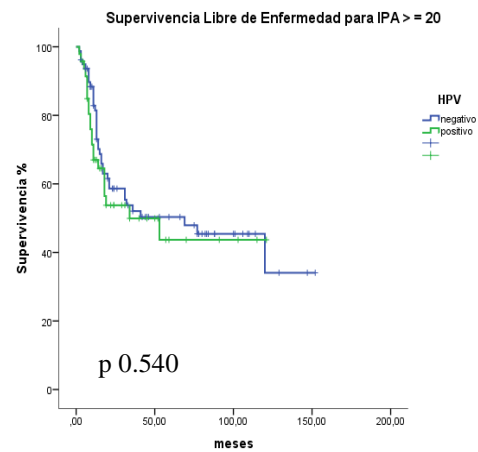
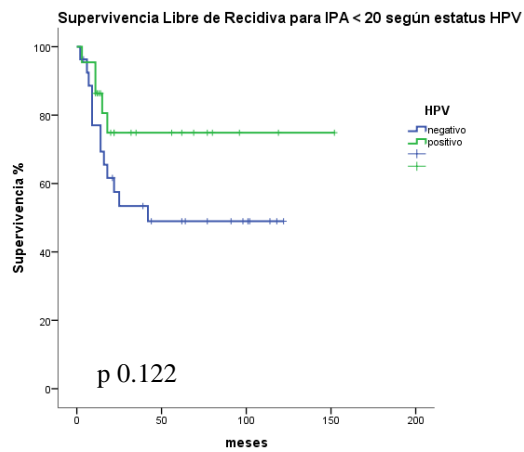
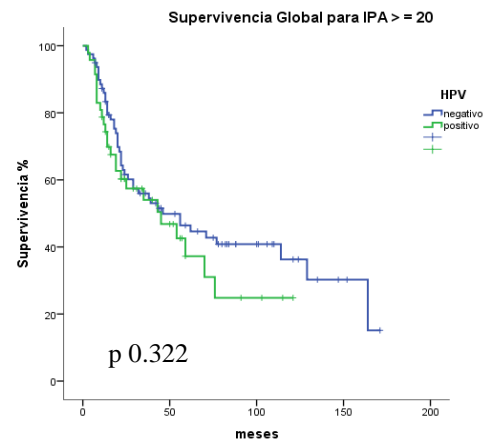
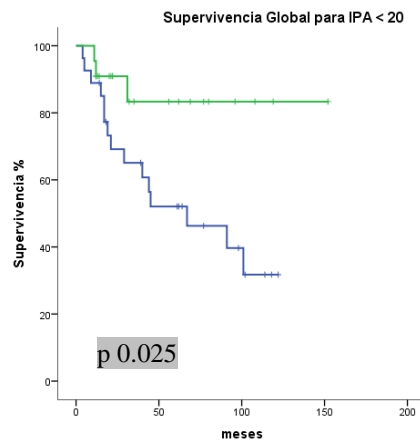
El Riesgo Relativo de morir en función del estatus HPV+/HPV- es 0.74 (IC 0.54-1.03), es decir, el estatus HPV + es protector, pero no de forma significativa (porque el intervalo de confianza contiene el 1).

El Riesgo Relativo de recidiva es 0.81 (IC 0.57-1.16). De forma similar el status HPV+ es protector, pero no de forma significativa.

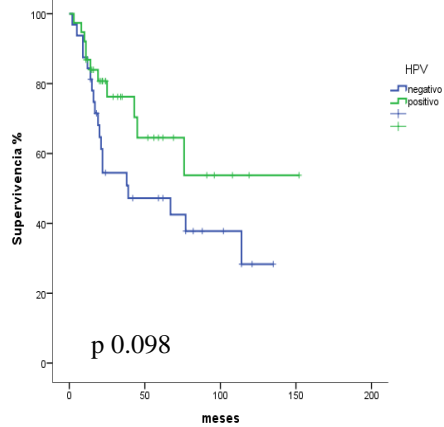
Se ha analizado también la supervivencia por subgrupos en función del estatus HPV:

- Estadios I-II
- Estadios III-IV
- N0-N1
- N2-N3
- T1-T2
- T3-T4
- IPA <20
- IPA ≥20
- Edad <60 años
- Edad ≥60 años
- No consumo de alcohol moderado/severo
- Consumo de alcohol moderado/severo

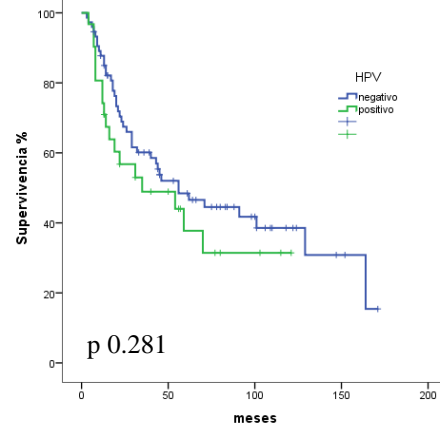
Sólo se han obtenido diferencias significativas en el caso del subgrupo de pacientes poco fumadores (IPA<20) y una tendencia a la significación en pacientes no bebedores. Es decir, en los pacientes poco fumadores y poco bebedores, el estatus HPV sí es un factor pronóstico (siendo el estatus HPV+ un factor protector).



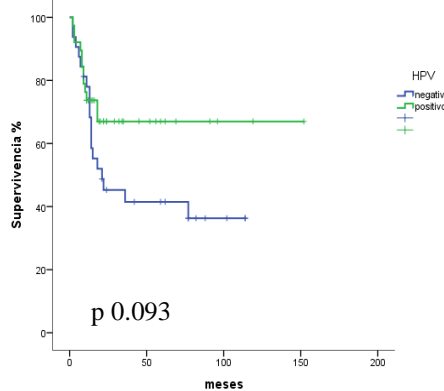
Supervivencia Global en pacientes no bebedores según estatus HPV



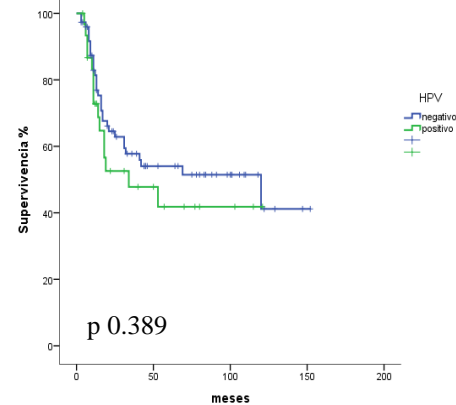
Supervivencia Global en pacientes bebedores según estatus HPV



Supervivencia Libre de Enfermedad en pacientes no bebedores según estatus HPV



Supervivencia Libre de Enfermedad en pacientes bebedores según estatus HPV



Tras realizar el análisis anteriormente descrito, como factores pronósticos independientes para la **Supervivencia Global** se han encontrado:

IPA	p 0.032
Grupos de edad	p 0.001
Estadios	p 0.000
T	p 0.002
N	p 0.008
Grupos de riesgo	p 0.000

Al realizar la Regresión de Cox univariante, se han obtenido resultados similares:

	Sig.	HR	95,0% IC	
			Inferior	Superior
Respecto a IPA<20	,044	1,703	1,014	2,861
Respecto estadio I	,001			
Estadio II	,894	6,073	,563	10,523
Estadio III	,893	6,360	,625	11,526
Estadio IVA	,887	10,295	,956	12,486
Estadio IVB	,878	22,715	,563	35,246
Respecto T1	,005			
T2	,088	3,543	,830	15,129
T3	,033	4,728	1,130	19,778
T4a	,015	5,967	1,425	24,992
T4b	,001	15,482	2,979	80,473
Respecto N0	,011			
N1	,317	,663	,296	1,483
N2a	,908	1,043	,513	2,121
N2b	,750	,878	,393	1,958
N2c	,677	1,159	,578	2,327
N3	,011	2,390	1,225	4,662
Sexo Respecto a mujeres	,140	1,582	,860	2,909
Respecto a < 50	,002			
De 51 a 59	,109	1,705	,888	3,275
De 60 a 69	,004	2,614	1,350	5,061
Mayores igual 70	,000	3,684	1,771	7,663

Es decir, los pacientes con un IPA>20 tienen 1.7 veces más riesgo de muerte que los pacientes con IPA ≤20. Ser diagnosticado con menos de 50 años y en un estadio I son factores protectores, al igual que en estadios T1 y N0. Mientras que los pacientes que son diagnosticados en estadio T4b, tienen un riesgo de muerte 15 veces mayor que los T1, y los N3 2.4 veces mayor que los N0. Los hombres tienen un riesgo de morir 1.5 veces mayor que las mujeres (aunque *p* no significativa) .

Y como factores pronósticos independientes para la **Supervivencia Libre de Enfermedad** se han encontrado:

Grupos de edad	p 0.019
Estadios	p 0.000
T	p 0.023
N	p 0.013
Grupos de riesgo	p 0.005

Y en la Regresión de Cox univariante:

	Sig.	HR	95,0% IC	
			Inferior	Superior
Respecto a IPA<20	,237	1,375	,811	2,330
Respecto estadio I	,000			
Estadio II	,829	1,283	,133	12,353
Estadio III	,700	1,492	,195	11,425
Estadio IVA	,431	2,221	,304	16,201
Estadio IVB	,027	9,562	1,286	71,117
Respecto T1	,007			
T2	,098	2,856	,824	9,895
T3	,017	4,309	1,304	14,238
T4a	,007	5,116	1,552	16,868
T4b	,001	12,560	2,737	57,635
Respecto N0	,000			
N1	,710	,853	,368	1,974
N2a	,343	1,463	,667	3,209
N2b	,391	,685	,288	1,626
N2c	,996	,998	,461	2,159
N3	,000	4,382	2,121	9,054
Sexo Respecto a mujer	,120	1,585	,886	2,834
Respecto a no QT	,026	2,296	1,103	4,780
Respecto a < 50	,305			
De 51 a 59	,328	1,417	,705	2,845
De 60 a 69	,122	1,750	,861	3,559
Mayores igual 70	,085	2,004	,909	4,416

Ser diagnosticado en estadio I, T1 o N0 es un factor protector para no presentar recidivas. Los pacientes diagnosticado en estadio IVB tienen un riesgo de recidiva 9.5 veces superior que los diagnosticados en estadio I; los diagnosticados en estadios T3 4.3 veces superior con respecto a T1, y T4 12.5 veces superior. Los diagnosticados en con afectación ganglionar N3, 4.3 veces mayor que los N0. Los pacientes que no han recibido quimioterapia tiene un riesgo de recidiva 2.3 veces mayor que los que han recibido quimioterapia.

Y por último, como factores pronósticos independientes que influyen en el **Control Loco-regional** hemos encontrado:

Estadios	p 0.016
T	p 0.008
N	p 0.045
Grupos de riesgo	p 0.000

5. ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE LA SUPERVIVENCIA.

Al analizar el riesgo de muerte, tener estatus HPV+ es un factor protector, con un HR 0.90. Si ajustamos este riesgo con otras variables pronósticas (edad, T, N, estadio, IPA, localización y sexo), sigue siendo un factor protector, con tendencia a la significación (HR 0.8, p 0.355).

Análisis para Supervivencia Global uni y multivariante según status HPV				
	HR	95% Intervalo de confianza		p
SUPERVIVENCIA				
GLOBAL	0.898	0.575	1.404	0.638
SUPERVIVENCIA				
GLOBAL *	0.804	0.506	1.277	0.355
• Ajustado por Edad, T, N, Estadio, IPA, Localización y sexo				

Igual ocurre con el riesgo de recidiva. Y en este caso, aunque ajustemos por otras variables pronósticas, el HR no se modifica (HR 0.65, p 0.07) siendo este dato casi significativo.

Análisis para Supervivencia Libre de Enfermedad uni y multivariante según status HPV				
	HR	95% Intervalo de confianza		p
SLE*				
	0,656	0.411	1.047	0.07
<ul style="list-style-type: none">• Igual resultado en el estudio univariante que en el multivariante ajustado por edad, T, N, Estadio, IPA, localización, sexo				

Y el estatus HPV+ se comporta de forma similar cuando analizamos el control loco-regional. Se comporta como factor protector con tendencia a la significación.

Análisis para Control Loco-regional uni y multivariante según status HPV				
	HR	95% Intervalo de confianza		p
CLR	0.867	0.505	1.488	0.604
CLR*	0.853	0.481	1.513	0.587
• Ajustado por T, N, Estadío, IPA, Localización y grupos de riesgo				

VI. *DISCUSIÓN*

1. PREVALENCIA DE LOS TUMORES HPV+

El registro y la estimación de la incidencia y mortalidad asociadas al cáncer es esencial en el proceso de planificación de estrategias preventivas en Salud Pública.

Se estima que el 30% de los tumores relacionados con agentes infecciosos están causados por el HPV. Esto supone aproximadamente 660.000 nuevos casos cada año en el mundo, 470.000 en los países en vías de desarrollo y 190.000 en países desarrollados ².

Una revisión de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer ¹¹⁹, refleja que los tumores relacionados con el HPV son: cérvix, pene, vulva, vagina y orofaringe. Es conocido que el 100% de los tumores de cérvix son secundarios a la infección por HPV y se estima que la proporción de tumores no cervicales atribuibles a la infección por HPV es ¹²⁰:

- 90-93% anal
- 36-40% pene
- 40-51% vulva
- 40-64% vagina
- 12-63% orofaringe

La relación causal con otros tumores de cabeza y cuello, como cavidad oral, laringe o nasofaringe, no es tan fuerte como en el caso de la orofaringe ¹²¹.

Se estima que cada año se diagnostican 85.000 casos de carcinoma de orofaringe y de ellos 22.000 son HPV positivos ². Y que en 2020 la incidencia de carcinoma de orofaringe-HPV+ será mayor que la incidencia de carcinoma cervical y que en 2030 la mitad de los tumores de cabeza y cuello serán HPV+ ¹²².

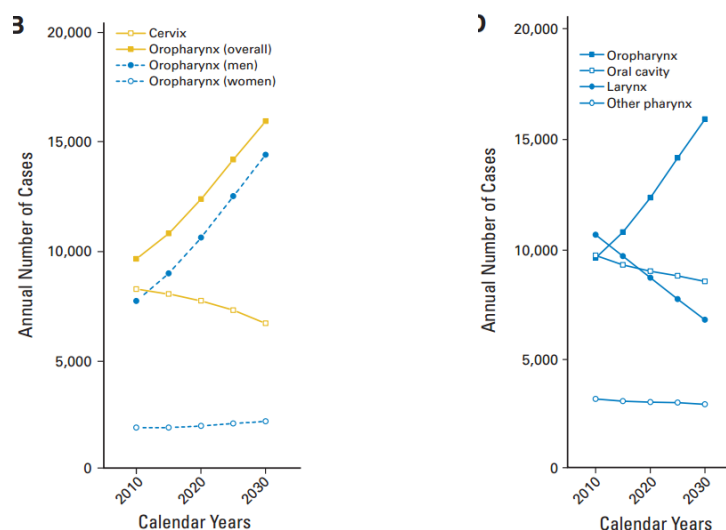


Figura 23 : Registro y predicción de incidencia anual de cáncer de cérvix y de orofaringe en las próximas décadas en EEUU.
(Tomada de Chaturvedi et al ¹²²)

En España, la infección por HPV a nivel cervical en mujeres se presenta en aproximadamente 10-30% de la población, siendo este porcentaje mayor en mujeres jóvenes (<25 años 40.9%; 25-35 años 34.2%; 36-45 años 27.2%; >45 años 19.6%)
123 124

También en España, basándose en el registro poblacional del cáncer de 7 ciudades, en 2011 y 2014 se han publicado registros y estimaciones de incidencia y mortalidad asociada a tumores de cabeza y cuello, tumores de orofaringe y tumores asociados a HPV ¹²⁵.

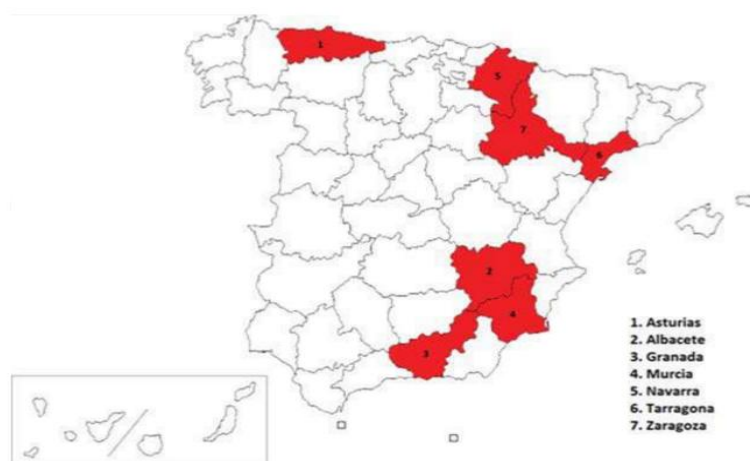


Figura 24 : Ciudades españolas con registro poblacional del cáncer en 2012
(Tomada de De Souza et al ¹²⁵)

En ellos se refleja que hay una tendencia a la reducción en el número de casos por 100.000 habitantes/año de carcinomas de cabeza-cuello en hombres y un ascenso en mujeres, probablemente debido a su incorporación al hábito tabáquico. Y en cuanto a localización, hay una tendencia al descenso en la incidencia de tumores de laringe e hipofaringe, debido probablemente al menor consumo global de tabaco y alcohol, mientras hay un incremento en el número de casos por 100.000 habitantes/año de tumores de orofaringe y cavidad oral.

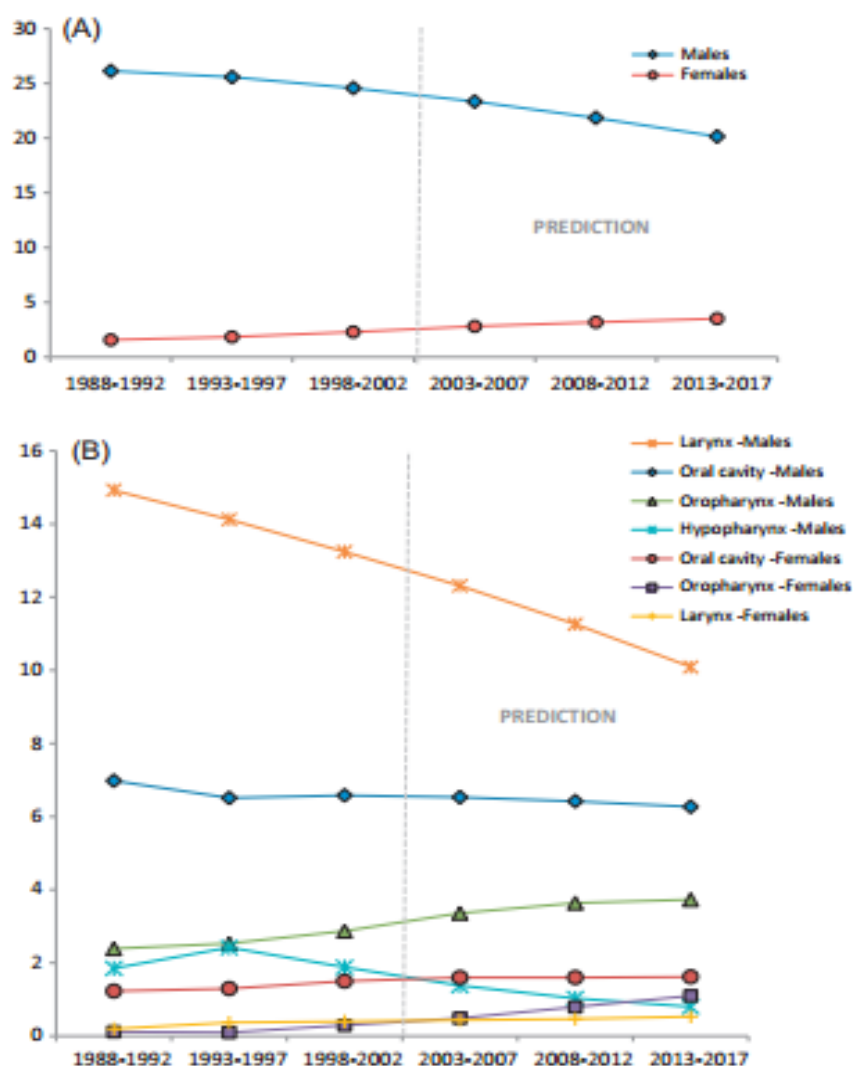


Figura 25 : Incidencia y predicción anual de tumores de cabeza y cuello (A) y de cavidad oral, orofaringe, laringe e hipofaringe en España (B). (Tomada de De Souza et al ⁴)

		Males						Females					
		Observed		Prediction				Observed		Prediction			
		1988-1992	1993-1997	1998-2002	2003-2007	2008-2012	2013-2017	1988-1992	1993-1997	1998-2002	2003-2007	2008-2012	2013-2017
Head and neck													
Age	0-54	883	913	882	895	892	834	49	68	95	149	167	164
	55-74	1911	2065	2085	2160	2223	2353	124	146	185	217	291	389
	≥75	638	796	996	1172	1262	1355	73	98	127	180	225	257
Total		3432	3774	3963	4227	4377	4542	246	312	407	545	682	810
Crude rate		34.01	35.16	35.77	34.13	32.72	32.76	2.59	3.16	4.06	4.97	5.74	6.56
ASW		26.13 (25.1-27.0)	25.57 (24.6-26.4)	24.57 (23.7-25.4)	23.34 (22.5-24.1)	21.85 (21.1-22.5)	20.15 (19.5-20.79)	1.57 (1.3-1.8)	1.84 (1.6-2.0)	2.3 (2.0-2.5)	2.81 (2.5-3.0)	3.18 (2.9-3.4)	3.51 (3.2-3.7)
Oropharynx													
Age	0-54	244	248	254	280	309	335	35	43	47	65	59	45
	55-74	485	507	534	572	591	643	105	107	137	136	158	195
	≥75	107	110	166	217	278	295	52	81	103	147	182	207
Total		836	865	954	1069	1178	1274	192	231	287	348	400	447
Crude rate		9.11	9.04	9.76	9.84	9.9	10.37	2.02	2.34	2.86	3.18	3.36	3.61
ASW		6.98 (6.4-7.4)	6.51 (6.0-6.9)	6.58 (6.1-7.0)	6.53 (6.1-6.9)	6.42 (6.0-6.8)	6.27 (5.9-6.6)	1.23 (1.0-1.4)	1.3 (1.1-1.4)	1.5 (1.2-1.7)	1.6 (1.4-1.7)	1.6 (1.4-1.7)	1.62 (1.4-1.8)
Oropharynx													
Age	0-54	100	105	132	169	218	251	3	6	20	26	43	60
	55-74	152	187	217	278	316	357	9	5	16	34	70	123
	≥75	19	18	36	61	90	102	8	5	10	34	58	66
Total		271	310	385	508	624	710	20	16	46	94	170	248
Crude rate		2.95	3.24	3.93	4.68	5.24	5.78	0.21	0.16	0.45	0.86	1.43	2.01
ASW		2.39 (2.0-2.6)	2.53 (2.2-2.8)	2.87 (2.5-3.1)	3.36 (3.0-3.6)	3.64 (3.3-3.9)	3.73 (3.4-4.0)	0.12 (0.0-0.2)	0.1 (0.0-0.1)	0.3 (0.2-0.4)	0.49 (0.3-0.6)	0.8 (0.6-0.9)	1.1 (0.9-1.2)

Figura 26 : Incidencia y predicción anual de tumores de cabeza y cuello, de cavidad oral y orofaringe por grupos de edad y sexo en España
(Tomada de De Souza et al ⁴)

Estos datos son concordantes con los registrados por la base de datos poblacional SEER de EEUU, donde los datos epidemiológicos en los tumores de cabeza y cuello y de orofaringe en las últimas décadas se han modificado de forma similar.

En cuanto a la mortalidad por cáncer relacionado con HPV, De Souza et al ¹²⁵, predicen que en los próximos 10 años en España se va a producir un discreto descenso en hombres por tumores de orofaringe y un aumento por tumores de pene y anal. En mujeres, en cambio, se espera que aumente la mortalidad por tumores de orofaringe, vulvar y vaginal, y que disminuya por tumores de cérvix.

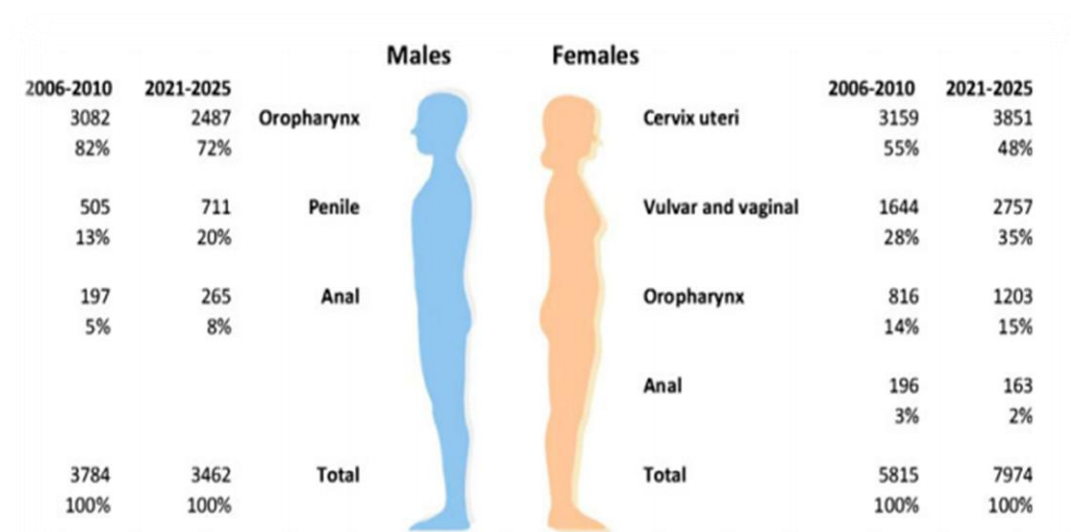


Figura 27 : Registro y predicción del número de muertes por cáncer relacionado con HPV en España entre 2006-2010 y 2021-2025.
(Tomada de De Souza et al ¹²⁵)

Table 2 Observed and predicted number of deaths by age and world age-standardized rates (ASW) in Spain

	Observed			Predicted		
	1996–2000	2001–2005	2006–2010	2011–2015	2016–2020	2021–2025
Males						
Oropharyngeal (including tonsils and base of tongue)						
Age						
0–54	1,056	831	720	505	348	2,94
55–74	1,953	1,805	1,746	1,681	1,629	1,457
≥75	466	499	616	652	666	736
Total	3,475	3,135	3,082	2,838	2,643	2,487
Crude rate	3.57	3.04	2.74	2.49	2.30	2.16
ASW	2.53	2.06	1.77	1.47	1.22	1.02
Females						
Oropharyngeal (including tonsils and base of tongue)						
Age						
0–54	112	136	135	146	158	163
55–74	217	257	311	367	433	463
≥75	252	305	370	444	485	577
Total	581	698	816	957	1,075	1,203
Crude rate	0.57	0.65	0.71	0.81	0.90	0.99
ASW	0.28	0.32	0.33	0.36	0.37	0.37

Figura 28 : Registro y predicción del número de muertes por cáncer relacionado con HPV en España entre 2006-2010 y 2021-2025 por grupos de edad y sexo en España (Tomada de De Souza et al ⁴)

Y a la vista de estos datos y predicciones, la infección por HPV se está convirtiendo en una epidemia mundial y sus consecuencias supondrán en pocos años un problema de salud pública, tanto clínico como económico. De ahí la importancia de conocer la situación actual en nuestro medio.

Referente a prevalencia de tumores de orofaringe HPV +, en España sólo tenemos un registro recogido por Rodrigo et al en 2014 ³² en Asturias, donde la prevalencia era de un 12%.

En nuestra muestra hemos obtenido una prevalencia del 39.4%.

Este dato, comparado con la prevalencia de tumores de orofaringe HPV+ en otros países, se asemeja más a los datos de los países del norte y centro de Europa que a los del sur de Europa. Como se puede ver en la Figura 29, destaca la alta prevalencia en los países escandinavos, donde la incidencia de carcinomas de orofaringe HPV+ en los años 2006-2007 llegó a ser hasta del 93% ¹²⁶ y la baja prevalencia en países de América del sur, como por ejemplo Brasil ¹²⁷, donde se ha registrado una prevalencia del 4%.

Hay otro estudio publicado recogiendo pacientes de países de Centro-América y América del Sur (Argentina, Chile, Colombia, Ecuador, Guatemala, Honduras, Méjico, Paraguay y Venezuela) donde la prevalencia es del 37% ¹²⁸.

En cuanto a la prevalencia en Europa, en los últimos registros, se ha objetivado una tendencia al alza ³¹.

De África no existe ningún registro.

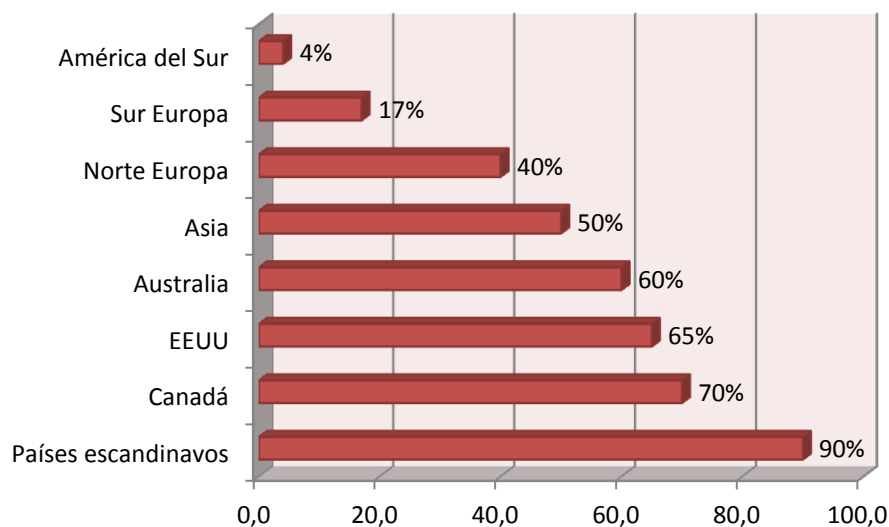


Figura 29 : Prevalencia de carcinomas de orofaringe HPV+

Desde el punto de vista preventivo, las técnicas de *screening* y diagnóstico precoz usadas en el carcinoma de cérvix (tinción de Papanicolau en citología cervical), desafortunadamente no son aplicables al diagnóstico precoz de carcinoma de orofaringe. Por esta razón son todavía más importantes las medidas de prevención primaria:

- Educación sexual y prevención de prácticas de riesgo.
- Vacunación.

Actualmente existen comercializadas tres vacunas frente al HPV:

- Gardasil: vacuna cuadrivalente frente HPV 6,11,16 y 18
- Gardasil 9: vacuna frente HPV 6,11,16,18,31,33,45,52 y 58
- Cervarix: vacuna bivalente frente HPV 16 y 18.

La FDA (Food and Drug Administration) aprobó el uso de Gardasil y Cervarix en 2006 y Gardasil 9 en 2014 en niñas. No aprobó el uso de la vacuna cuadrivalente en hombres hasta 2009.

El momento recomendable para la vacunación es antes de mantener el primer contacto sexual. Una historia de infección cervical por HPV no contraindica la vacunación, pero la inmunización es menos efectiva porque ninguna vacuna trata la infección o acelera el aclaramiento de la misma ¹²⁹. Las distintas sociedades científicas (ACIP, ACS, WHO..) recomiendan la edad de vacunación en niñas entre los 11-12 años, aunque la vacuna se puede administrar desde los 9 años ¹³⁰ y ya hay algunos expertos que aconsejan adelantar la edad de vacunación basándose en la iniciación en la práctica sexual cada vez más precoz, no sólo de relaciones vaginales sino también de sexo oral; según datos del CDC (Center for Disease Control) en EEUU entre el 1-3% de los jóvenes mantienen relaciones sexuales antes de los 11 años ¹³¹. En España se comenzó a vacunar en 2007 a las niñas de 14 años, pero actualmente se ha adelantado a los 12 años. Se administran dos dosis, la segunda a los seis meses de la primera.

La eficacia de estas vacunas en la prevención de la infección cervical, de lesiones benignas, lesiones malignas intraepiteliales y lesiones malignas infiltrantes cervicales ha sido ampliamente demostrada en estudios randomizados ^{132 133 134 135}.

La eficacia para prevenir la infección oral por HPV se analizó en un ensayo con la vacuna bivalente en Costa Rica, estimándose que era del 93% ¹³⁶, pero si la vacuna puede prevenir o no el carcinoma de orofaringe todavía no ha sido analizado.

La ACIP (Advisory Committee on Immunization Practices) recomienda la vacunación con la vacuna tetravalente a los niños de 11-12 años. También se puede vacunar a los niños de 13-26 años que no se hayan vacunado previamente y a hombres mayores de 26 años homosexuales o inmunodeprimidos ¹²⁹. Aunque en la actualidad sólo en Australia, Canadá y EEUU se ha incluido esta vacuna en niños en su calendario vacunal.

Los argumentos para incluir en el calendario vacunal a los niños son:

- la prevalencia de infección oral de HPV en EEUU es del 6.9% en la población entre 14-69 años, siendo ésta mayor en hombres que en mujeres (10.1% vs 3.6%, $p<0.001$) ¹³⁷.
- estudios con las tres vacunas han demostrado que la proporción de inmunizados tras recibir la vacuna es similar en hombres (99%) vs mujeres (93%) ¹³⁸.
- en hombres, la eficacia de la vacuna tetravalente para reducir lesiones externas genitales y neoplasias intraepiteliales anales es del 77.5% y 91.7% respectivamente ¹³⁹.
- si se vacunan sólo a niñas, los hombres heterosexuales también se beneficiarían indirectamente de esta inmunización, pero los hombres homosexuales no.

En Canadá se comenzó a vacunar a niños de 12 años en el 2012. En 2015 se publicó un informe preliminar analizando si la vacunación de niños es una estrategia coste-efectiva en la prevención del cáncer de orofaringe. Se concluyó que para una cohorte de 192.940 niños de 12 años registrados en 2012, con la vacunación de los mismos, se podía ahorrar hasta 28 millones de dólares canadienses y se podría ganar en años de vida ajustados por calidad de vida ¹⁴⁰

2. EPIDEMIOLOGIA

Analizando nuestra muestra vemos que mayoritariamente son hombres (80%), de mediana edad (50-59 años), con buen estado general (ECOG 0).

Llama la atención el alto consumo de alcohol y tabaco; el 60% de los pacientes reconocen un consumo moderado/severo de alcohol y el 89% son fumadores (con un consumo mediano de 20 cig/día, mediana de IPA 20 paq/año). Estos datos son típicos de la época analizada.

La localización más prevalente es la amígdala seguido de la base de lengua, acumulando las dos localizaciones al 69% de los pacientes.

Son tumores que en la mayoría se diagnostican en estadio loco-regionalmente avanzados, T3-T4a (60 %). Y los estadios IVA y III engloban al 75% de los pacientes.

La mayoría de los pacientes fueron tratados con tratamiento conservador (91%). El 78% con técnicas de radioterapia 3D; este dato se explica porque los pacientes fueron tratados entre el año 2000 y 2013. Hoy en día el tratamiento de tumores de orofaringe se realiza con técnicas de IMRT en la mayoría de los centros de nuestro país, pero en el periodo de reclutamiento todavía no estaba disponible o se estaba iniciado en nuestros centros. En cuanto a la quimioterapia, el 82% de los pacientes la recibieron, dato que es coherente con la prevalencia del estadio al diagnóstico, ya que la mayoría de los pacientes se diagnosticaron en estadios localmente avanzados. Sólo el 33% recibieron quimioterapia neoadyuvante, mientras que el 70% la recibieron concomitante.

El 78% de los pacientes presentaron respuesta completa, pero en 39 pacientes se objetivó respuesta parcial o progresión de la enfermedad y en 37 de ellos se practicó un vaciamiento ganglionar de rescate.

El 45% de los pacientes recidivaron, de forma local el 26%, regional el 12% y a distancia el 19%.

Centrándonos en la muestra HPV+, las características más prevalentes son muy similares a las de la muestra completa: varones (74%), entre 50-59 años, con ECOG 0. Son muy fumadores (el 84%, con una mediana de 20cig/día; el 69% con un IPA >20 y

un IPA mediano de 20 paq/año) y muy bebedores (45% consume alcohol de forma moderada/severera).

La localización más frecuente es amígdala seguido de base de lengua. En el meta-análisis publicado en 2014 por Ndiaye et al ¹⁴¹ también se obtuvieron estos resultados.

Los estadios más prevalentes son T2-T3 (62%), N2b-N2c (46%) y los estadios III-IVA (78%). En la literatura también se han obtenido resultados similares en múltiples estudios, ya que el paciente HPV+ se suele diagnosticar en estadio T no muy avanzado pero con importante afectación ganglionar. Por ejemplo, en el estudio publicado por Kian Ang en 2010 ⁵, el 75% de los pacientes eran T2-T3 y el 59% eran N2b-N2c.

El 74% de los pacientes presentaron en la reevaluación post-tratamiento una respuesta radiológica y clínica completa. 61% no recidivaron. Y al finalizar el seguimiento, 51% estaban vivos sin enfermedad.

Al analizar la distribución de otras variables pronósticas en las muestras HPV+ vs HPV- se han obtenido los siguientes resultados :

- Sexo: en ambos grupos prevalecen los hombres (74% HPV+ vs 84% HPV-), pero con *p* no significativa. En varios estudios publicados los resultados son similares (D`Souza¹⁴², Nichols ¹⁴³, Lassen ⁹). Sin embargo Kian Ang sí encontró diferencias estadísticamente significativas ⁵.
- Edad al diagnóstico: la media de edad en el grupo HPV+ fue de 57 años y en el grupo HPV- de 59 años, siendo esta diferencia no estadísticamente significativa. Kian Ang ⁵ sí encontró diferencias significativas entre sus dos muestras con una mediana de edad en el grupo HPV+ de 53 años y de 57 años en el HPV-. En ambos casos y en otros estudios, se repite que los pacientes HPV+ son más jóvenes.
- Grupos de edad: sí se han encontrado diferencias estadísticamente significativas, siendo los pacientes <59 años predominantemente HPV+ (67% vs 55%) y los pacientes ≥ 60 años HPV- (45% vs 33%).

- Consumo de tabaco: en nuestra muestra el porcentaje de no fumadores un muy baja. Kian Ang ⁵, Nichols ¹⁴³ y D'Souza ¹⁴² si obtuvieron diferencias significativas entre ambos grupos, siendo el porcentaje de nunca fumadores mayor en el grupo HPV+. La mediana del IPA en HPV+ fue de 12 y en HPV- 36 ⁵, mientras que en nuestra muestra la mediana en ambos grupos ha sido 20.
- Consumo de alcohol moderado/severo: sí hay diferencias significativas entre ambos grupos, siendo el porcentaje de no bebedores mayor en el grupo HPV+. Resultado similares obtuvieron D'Souza ¹⁴² y Nichols ¹⁴³.
- Localización: prácticamente en todos los estudios publicados, los datos coinciden. La localización más frecuente de tumores de orofaringe HPV+ son la amígdala seguido de la base de lengua. Esto se explica por las características histopatológicas de estos tejidos, derivados del tejido linfoide con criptas por las que tiene especial afinidad el virus.
- Estadios: en ambos grupos los estadios más predominantes fueron los III y IVA. Similares resultados obtuvieron Kian Ang y Nichols.
- T: en HPV + predominan los estadio T3 seguido de T2, mientras que en los HPV- los T4a seguido de T3. Estos datos son similares a los obtenidos por Kian Ang ⁵, y en su estudio si se obtuvo una p significativa.
- N: en HPV + son más frecuentes los estadios N2b-N2c, mientras que en los HPV- los N0-N1. Pero sin ser estadísticamente significativo. Tampoco lo fue en el estudio de Kian Ang.
- Tratamiento recibido: sólo se han encontrado diferencias significativas en el tratamiento con quimioterapia concomitante, recibiendo la misma una mayor proporción de pacientes HPV+ que HPV-.

Se ha observado una diferencia cercana a la significación en la variable éxitos (la proporción de pacientes HPV- que han muerto es mayor, $p=0.065$) y en la recidiva local (un mayor número de pacientes HPV- han recidivado localmente, $p=0.08$)

3. INFLUENCIA DEL TABACO EN EL PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES HPV+

Los datos epidemiológicos indican que el consumo de tabaco es un factor pronóstico independiente en la evolución de los tumores de orofaringe ³⁴.

Además, a lo largo de los últimos años, se han publicado numerosos estudios en los que se evidencia que el comportamiento biológico correspondiente a los pacientes HPV+ podría verse modificado por la acción del tabaco.

Hafkamp et al ¹⁴⁴ analizaron 81 pacientes de carcinoma de orofaringe. El 41% de los pacientes fueron HPV+. El consumo de tabaco fue significativamente menor en los pacientes HPV+ ($p= 0.002$). La supervivencia global a 5 años en los pacientes HPV+ fue del 55% y en los pacientes HPV- fue del 29 % ($p = 0.023$). Sin embargo, en los pacientes fumadores, el estatus HPV perdió su capacidad pronóstica, no encontrándose diferencias significativas en la supervivencia global de ambos grupos, como se puede ver en figura 30. Al realizar el estudio multivariante, se objetivó una tendencia a la significación como factor pronóstico del estatus HPV (HR 2.00, IC 95% 0.9-4.2, $p=0.08$) y la variable que se relacionó de forma significativa con la supervivencia global fue el consumo de tabaco (HR 5.53, IC 95% 1.3-23.6, $p=0.02$)

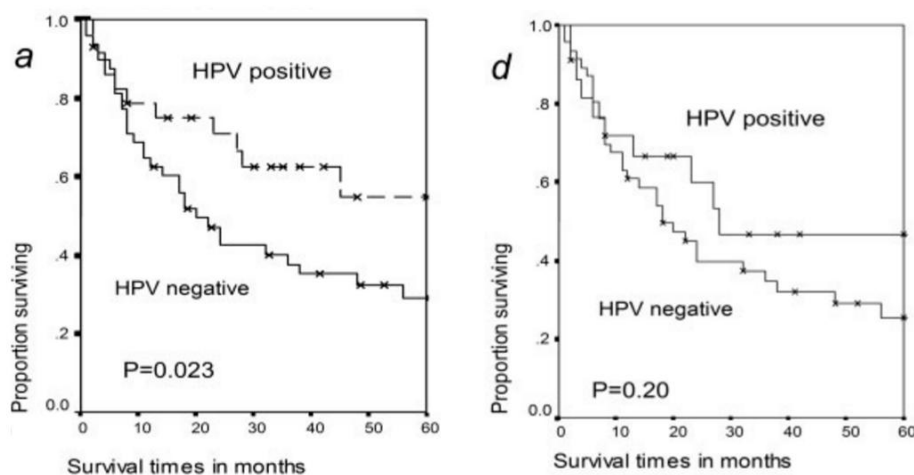


Figura 30 : Supervivencia global según status HPV a la izquierda.
Supervivencia global en pacientes fumadores según status HPV a la derecha
(Tomada de Hafkamp et al ¹⁴⁴)

Los datos obtenidos por Kian Ang en su ensayo RTOG 0129 revelan que el comportamiento de los tumores HPV+ puede ser alterado por el tabaco. Esa influencia se incrementa con el número de paquetes/año. El riesgo de muerte y recidiva tumoral se incrementa significativamente un 1% por cada paquete/año, tanto en los pacientes de tumores de orofaringe HPV+ (HR 1.01, 95% CI 1.00-1.02) como en los HPV- (HR 1.01, 95% CI 1.00-1.03). En su estudio, la media del IPA fue 12.2 en pacientes HPV+ y de 36.5 en pacientes HPV-⁵.

Gillison et al¹⁴⁵ analizaron 190 pacientes incluidos en dos ensayos de la RTOG (0129 y 9003). Los resultados mostraron que el riesgo de muerte, después de ajustar por p16 y otros factores, se incrementaba un 1% por cada paquete/año y un 2% por cada año de consumo de tabaco ($p=0.002$ y $p<0.01$, respectivamente).

Hong et al¹⁴⁶ diseñaron un estudio para evaluar de forma específica la relación entre el consumo de tabaco y el pronóstico en función del estatus HPV. Se analizaron 411 pacientes tratados de carcinoma de amígdala en Australia entre los años 1987-2006. El tabaco resultó ser un factor pronóstico independiente para la supervivencia global y no se objetivó interacción entre el tabaco y el estatus HPV. No se encontró evidencia de que la capacidad pronóstica atribuible al tabaco se vea modificada por el estatus HPV.

Hay distintas teorías para explicar el efecto negativo del tabaco sobre los tumores HPV+:

❖ El tabaco aumenta la hipoxia tisular: el consumo de tabaco produce un aumento en los niveles de monóxido de carbono en sangre y reduce la capacidad de transporte de oxígeno por los hematíes; además produce alteración de la microcirculación, reduciendo la oxigenación tisular¹⁴⁷.

Conocido es que la hipoxia tumoral está relacionada con menor respuesta a la radioterapia y a lo largo de la historia se han realizado numerosos intentos para disminuir la hipoxia tumoral y así mejorar el pronóstico de los pacientes¹⁴⁸. En el ensayo DAHANCA 5¹⁴⁹ se registró que el uso de Nimorazole (fármaco radiosensibilizante al disminuir la hipoxia tumoral) aumentaba la respuesta a la radioterapia de tumores de cabeza y cuello. En 2010 Lassen et al¹⁵⁰ realizaron un subanálisis del estudio DAHANCA 5 incluyendo el estatus HPV+/HPV-. Observaron

que en el grupo HPV- el uso de Nimorazole sí aportaba beneficio, mientras en el grupo HPV+, la respuesta a la radioterapia no se modificaba. Se sugirió entonces que en los tumores HPV+ el grado de hipoxia tumoral era menor.

Pero estudios posteriores con PET usando *F-fluoroazomycin arabinoside* (FAZA) ¹⁵¹, análisis de la expresión génica en situaciones de hipoxia ¹⁵² y estudios in vitro ¹⁵³ no han encontrado diferencias en el nivel de oxigenación de los tumores HPV+ y HPV-.

❖ El tabaco produce inmunosupresión: el consumo de tabaco produce una inhibición de la actividad de los linfocitos T, de la presentación de antígenos y de las inmunoglobulinas circulantes ¹⁵⁴.

❖ El tabaco induce alteraciones genéticas: Prokopczyk et al ¹⁵⁵ demostró que la exposición a carcinógenos asociados al tabaco de las células cervicales infectadas por HPV, producían la inmortalización y malignización de las mismas, dando lugar al carcinoma de cérvix. Un mecanismo similar puede ocurrir en el caso de tumores de cabeza y cuello.

❖ El tabaco produce múltiples comorbilidades, como EPOC, patología cardíaca, vascular, malnutrición, etc, que acortan la vida del paciente.

En nuestro medio, y así se refleja en nuestra muestra, todavía el consumo de tabaco es muy alto. Desde la aplicación de la Ley Antitabaco en Enero 2005, el consumo se ha reducido, siendo en 1999 del 33.5% y en 2011 del 30%, produciéndose un descenso en el consumo entre los hombres y manteniéndose estable entre las mujeres¹⁵⁶. En comparación con el resto de Europa, en el último Eurobarómetro publicado en 2015, ocupamos el 9º puesto, ocupando los primeros puestos Grecia y Bulgaria con un consumo del 38% y 35% respectivamente y los últimos puestos Finlandia y Suecia con un consumo del 19% y 11%.

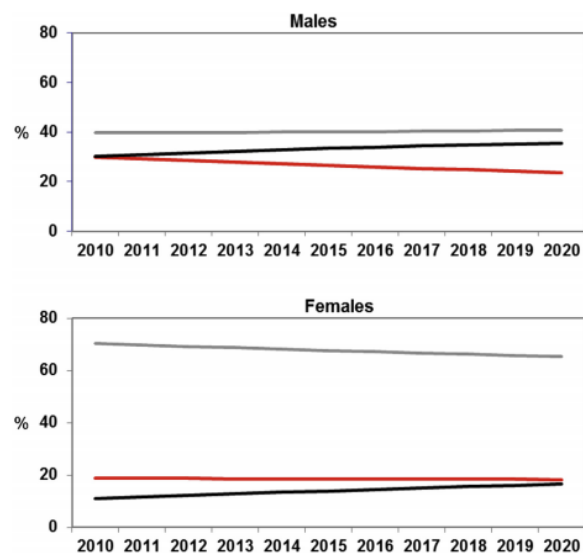


Figura 31 : Prevalencia y previsión de consumo de tabaco por sexo en España. Gris:nunca fumadores. Rojo: fumadores. Negro: exfumadores (Tomada de Raña et al ¹⁵⁶)

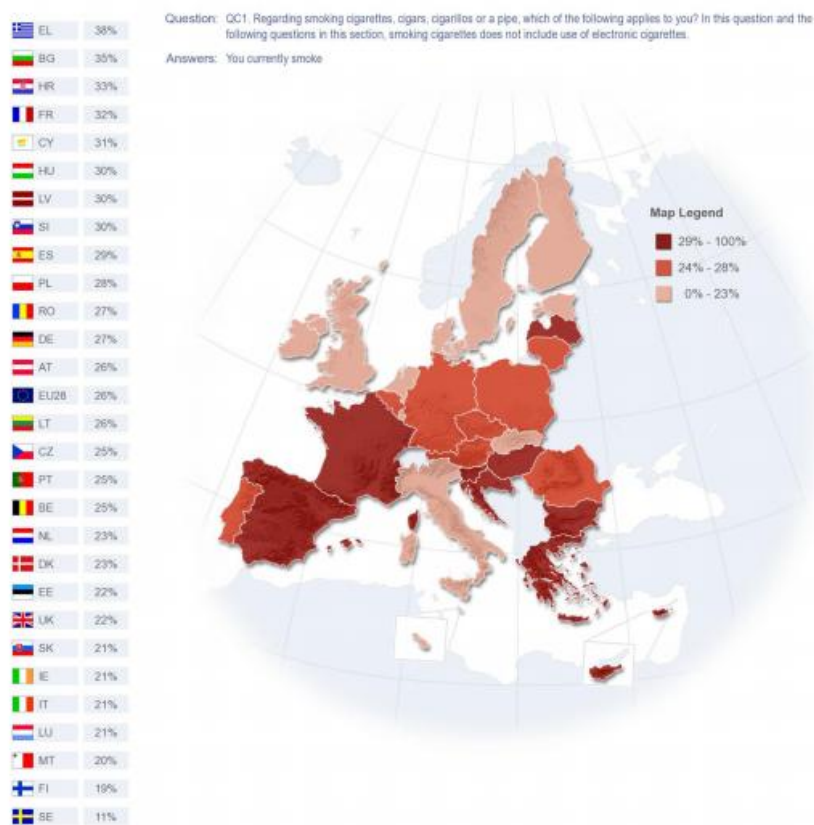


Figura 32 : Consumo de tabaco en Europa. Tomada del Special Eurobarometer 429 “Attitudes of Europeans towards Tobacco and Electronic Cigarettes” publicado en Mayo 2015

En nuestra muestra el 89% de los pacientes son fumadores, con un consumo medio de 24.5 cigarrillos/día. La media del IPA es 29 paq/año. En la muestra HPV+ el 84% son fumadores y el 91% en la muestra HPV- ($p=0.149$). Y en el 68% de los pacientes HPV+ el IPA es >20 y en el 74% de los pacientes HPV- ($p=0.391$). Por este motivo, aunque el porcentaje de fumadores es menor en el grupo HPV+, la diferencia no llega a ser estadísticamente significativa.

Estos datos están muy por encima de los obtenidos en otros estudios. Anantharaman¹²⁷ recogió una IPA medio en EEUU de 6.5 paquete/año, en Europa 7.6 y en Brasil 2.6. En el estudio de Kian Ang RTOG 0129⁵, la media del IPA en el grupo HPV+ fue 12.2 y en el grupo HPV- 36.5%. En el ensayo RTOG 9003, la mediana del IPA en el grupo HPV+ fue 29 y de 46 en el grupo HPV-. En estos países las campañas antitabaco empezaron muchos años antes que en el nuestro.

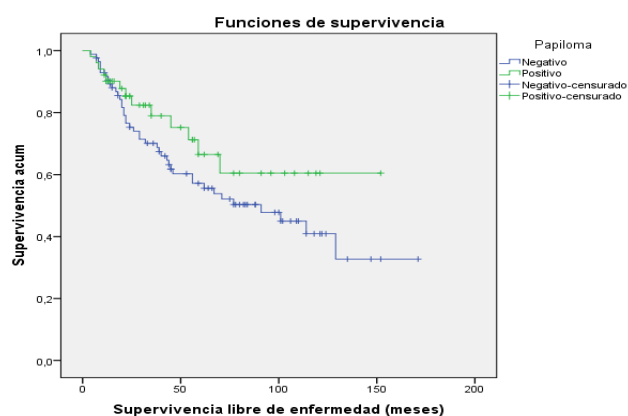
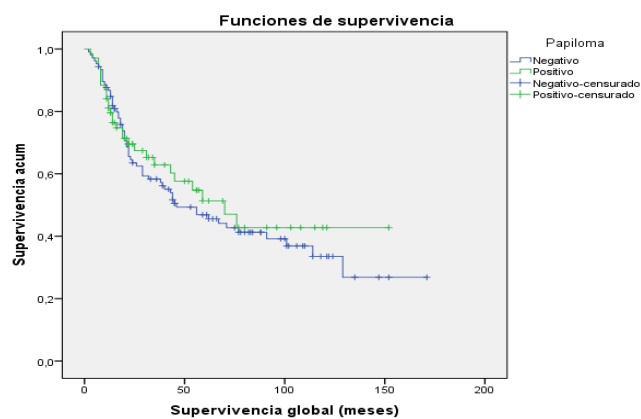
4. MÉTODO DE DETECCIÓN DE LA INFECCIÓN

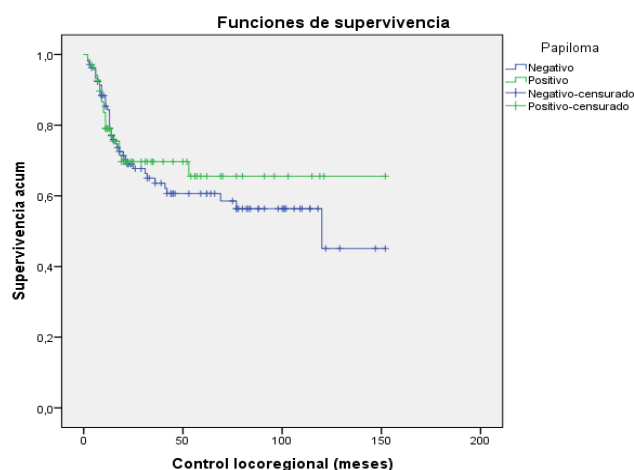
En cuanto al método de detección del virus, se ha usado el método indirecto de determinación de la sobreexpresión de p16 mediante inmunohistoquímica. Este método está validado en la actualidad por su alta sensibilidad y especificidad y su bajo coste. De hecho, en las principales guías de práctica clínica, en el algoritmo diagnóstico de este tipo de tumores, se recomienda la determinación mediante inmunohistoquímica de la sobreexpresión de la proteína p16. En los primeros estudios realizados a finales del siglo XX y principios del siglo XXI, mayoritariamente se usaban los métodos de detección directos o se combinaban un directo con la determinación de la sobreexpresión de la proteína p16. Pero una vez analizada la sensibilidad y especificidad de éste último, en los estudios más recientes se ha usado exclusivamente el método indirecto.

En el proyecto inicial también se contempló la detección de RNA viral mediante PCR y se comenzó a realizar, pero tras el proceso de desparafinado, el RNA quedaba muy degradado, de tal forma que sólo se pudo realizar la determinación en el 10% de las muestras. Por este motivo desestimamos continuar con la técnica y no hemos incluido los resultados de PCR en el análisis final.

5. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

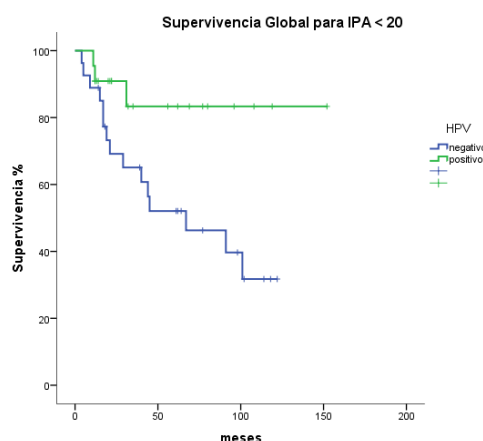
Al igual que la gran mayoría de estudios que han evaluado la influencia del estatus HPV en la supervivencia de los pacientes con carcinoma de orofaringe, los resultados de nuestro estudio encontraron que los pacientes HPV+ presentaron una mayor supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y control loco-regional que los pacientes HPV-, aunque estas diferencias no han sido estadísticamente significativas.



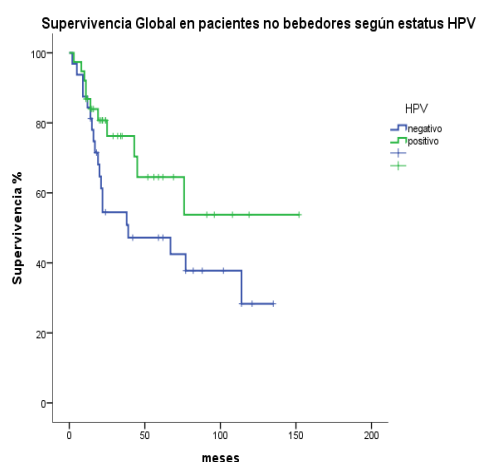


Es posible que el alto consumo de tabaco en todos nuestros pacientes reste significación estadística al valor pronóstico del virus. Así, en nuestra muestra destaca el consumo alto de tabaco con respecto a otros estudios. Sólo 20 pacientes no eran fumadores. Y está ampliamente demostrado que el tabaco es un factor pronóstico independiente negativo en este tipo de tumores, como hemos visto previamente.

De hecho, al analizar la supervivencia en el subgrupo con IPA<20 sí que se han encontrado diferencias estadísticamente significativas por estatus HPV+, en decir, en este grupo de pacientes poco fumadores, el tabaco no ha anulado el efecto protector de buen pronóstico del HPV+ (p 0.025).



Y el mismo efecto ha tenido el consumo de alcohol de forma moderada-severa. Al analizar la supervivencia global en el subgrupo de no bebedores por estatus HPV hemos encontrado una tendencia a la significación estadística, siendo el estatus HPV+ un factor protector (p 0.098)



Al realizar el análisis univariante con otros factores pronósticos hemos obtenido que en relación a la **supervivencia global**, son factores independientes:

- Edad
- Estadio
- T
- N
- IPA
- Grupos de riesgo

En relación a la **supervivencia libre de enfermedad**:

- Edad
- Estadio
- T
- N
- Grupos de riesgo

En relación al **control loco-regional**:

- Estadio
- T
- N
- Grupos de riesgo.

Al realizar el estudio multivariante de la supervivencia global ajustándola por los factores pronósticos independientes, el HR ha sufrido una mínima variación (de 0.898 a 0.804, p 0.355). Igual ha ocurrido con el control loco-regional (HR 0.0867 a 0.853). En el caso de la supervivencia libre de enfermedad, no ha sufrido ninguno modificación: HR 0.656, p 0.07, con una clara tendencia a la significación. Pero en los tres casos el estatus HPV+ es un factor protector.

6. GRUPOS DE RIESGO

Kian Ang fue el primero que, en su estudio publicado en 2010, clasificó en grupos de riesgo a los pacientes de carcinoma de orofaringe analizando distintas variables ⁵: estatus HPV+/- , IPA, estadio T y estadio N.

- Bajo riesgo: HPV +, IPA≤10
HPV + , IPA> 10 y N0-N2a
- Riesgo intermedio: HPV+, IPA >10 y N2b-N3
HPV-, IPA≤10 y T2-T3
- Alto riesgo: HPV-, IPA≤10 y T4
HPV-, IPA>10

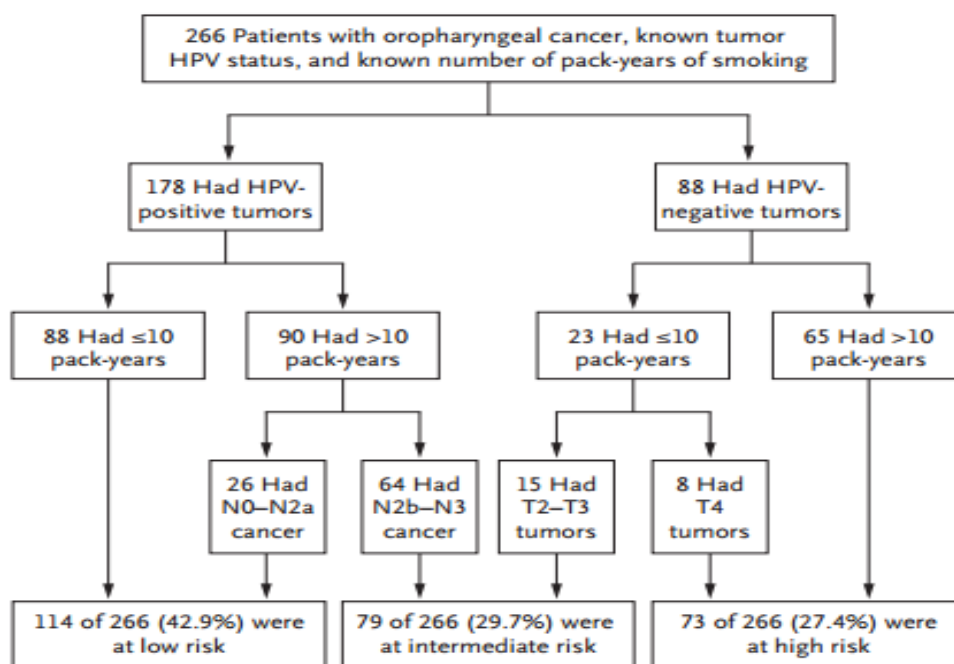


Figura 33 : Grupos de riesgo según estatus HPV, IPA, T y N
(Tomada de Kian Ang et al ⁵)

La supervivencia global a 3 años fue:

- Bajo riesgo: 93%
- Riesgo intermedio: 70.8%
- Alto riesgo: 46.2%

De esta forma el estatus HPV se sumaba a otros factores pronósticos tradicionales como el tabaco o el estadio. Y en la actualidad sabemos que es el factor pronóstico independiente de mayor influencia.

Clasificando a los pacientes de nuestra muestra en grupos de riesgo usando los mismos criterios que Kian Ang usó en su ensayo RTOG 0129, obtenemos los siguientes resultados:

	Nuestro estudio		RTOG 0129	
Bajo riesgo	37	21.2%	114	43%
Riesgo intermedio	41	23.4%	79	30%
Riesgo alto	97	55.4%	73	27%
No fumadores		11%		22%
IPA <= 10		20.5%		42%
Prevalencia HPV+		39.4%		64%
SG 3 años en Bajo Riesgo		79.1%		93%
SG 3 años en Riesgo Interm		63% %		70.8%
SG 3 años en Alto Riesgo		51.7%		46.2%

Como se puede ver, en nuestra muestra el porcentaje de pacientes de riesgo alto es el doble y de pacientes de bajo riesgo es la mitad que en el estudio de Kian Ang. Este resultado está en relación con las diferencias en la frecuencia de tumores HPV+ (menor en nuestro estudio), de no fumadores (la mitad en nuestro estudio) y de pacientes con IPA menor a 10 (la mitad en nuestro estudio).

Y comparando las curvas de supervivencia global el comportamiento sí es similar, aunque en nuestro estudio no se han obtenido diferencias estadísticas (p 0.118).

El HR de riesgo de muerte en los distintos grupos de riesgo obtenidos por Kian Ang fueron:

- Bajo riesgo: HR 2.67 (95% CI 1.54-4.62)
- Riesgo intermedio: HR 3.54 (95% CI 1.91-6.57)
- Alto riesgo: HR 7.16 (95% CI 3.97-12.93)

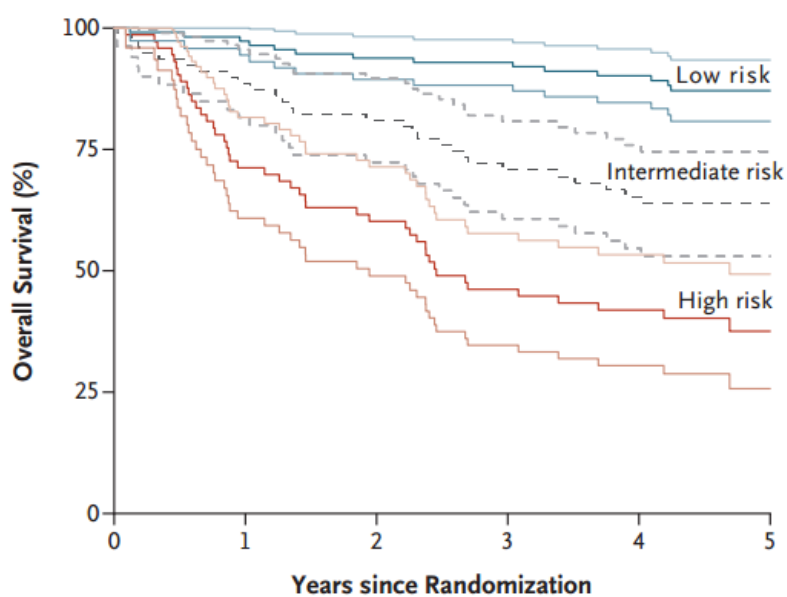


Figura 34: Supervivencia Global por grupos de riesgo
(Tomada de Kian Ang et al ⁵)

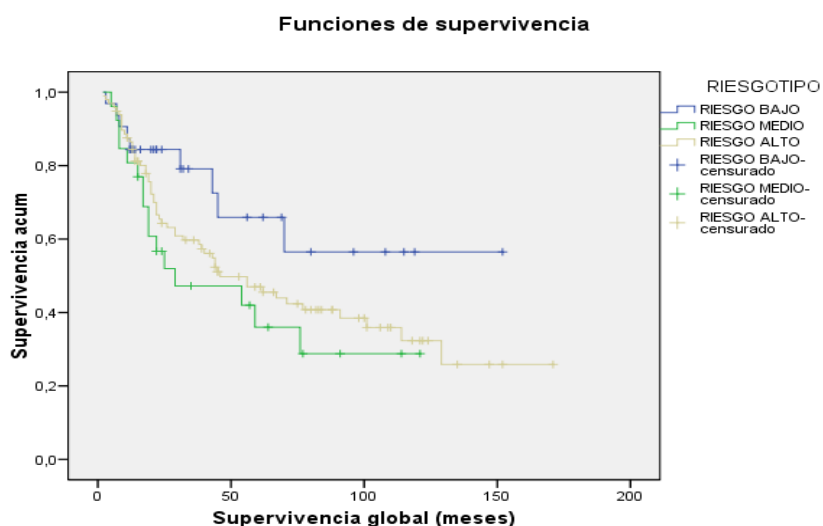


Figura : Supervivencia Global por grupos de riesgo
en nuestro estudio.

En los últimos años ha surgido la necesidad de definir , dentro de los pacientes HPV+, aquel grupo de mejor pronóstico y así poder ofrecerle un tratamiento más conservador, con fármacos menos tóxicos y desintensificando los tratamientos de radioterapia.

En 2015, Huang et al ¹⁵⁷, publicaron los resultados del análisis de una cohorte de 573 pacientes HPV+ tratados en el Hospital Princess Margaret, en EEUU, entre los años 2000 y 2010. Como variables pronósticas analizaron: estadio T y N, edad y el consumo de tabaco. Definieron 4 nuevos estadios:

- Estadio I: T1-T3, N0-N2c, IPA<0=20
- Estadio II: T1-T3, N0-N2c, IPA>20
- Estadio III: T4 o N3 y <0= 70 años
- Estadio IVA: T4 o N3 y >70 años

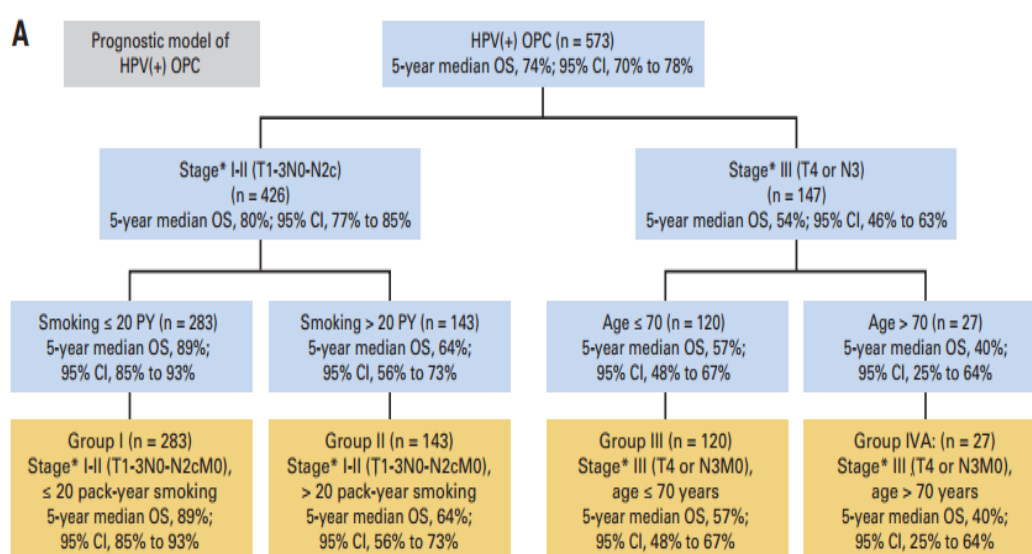


Figura 35 : Clasificación de los pacientes de carcinoma de orofaringe HPV+ por grupos de riesgo según Huang et al ¹⁵⁷.

La Supervivencia Global a 5 años fue respectivamente de 89%, 64%, 57% y 40%.

Más recientemente, en 2016, Dahlstrom et al ¹⁵⁸, publicaron el análisis de una cohorte de 662 pacientes HPV+ tratados en la Clínica MD Anderson entre 2003 y 2012. Estadificaron a los pacientes sólo en función del estadio T y N:

- Estadio IA: T1, N0-N2
- Estadio IB: T2, N0-N2
- Estadio II: T1-T2, N3 o T3
- Estadio III: T4

La Supervivencia Global a 5 años fue, respectivamente, de 94%, 87%, 76% y 69%.

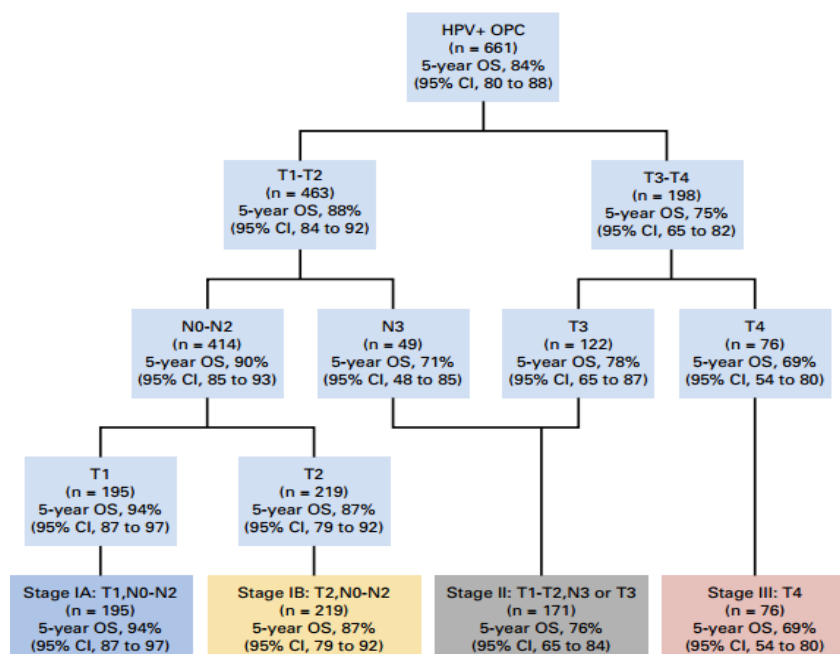


Figura 36: Clasificación de los pacientes de carcinoma de orofaringe HPV+ por grupos de riesgo según Dahlstrom et al ¹⁵⁸

En Septiembre 16, Larsen et al ¹⁵⁹, publicaron los resultados de su estudio prospectivo, donde analizaron una cohorte de 1542 pacientes de carcinoma de orofaringe HPV+. Tras el análisis uni y multivariante definieron grupos de riesgo en función de las siguientes variables: status HPV, T, N, tratamiento recibido, edad, IPA y performance status. La supervivencia global a 5 años fue en el grupo de bajo riesgo >80%, riesgo intermedio 79-20% y alto riesgo <20%. Los pacientes clasificados de bajo riesgo, podrían beneficiarse de la desintensificación de los tratamiento.

Además crearon normogramas para predecir la supervivencia global y libre de enfermedad a 1,5 y 10 años.

Points	0	1	2	3	
Treatment	RT and chemotherapy	RT	Palliative	NA	No treatment
Age	0-44	45-64	65-89	90 and above	NA
HPV/p16	HPV+/p16+	HPV-/p16+	HPV-/p16- or HPV+/p16-	NA	NA
T classification	T1	T2-T3	T4	NA	NA
N classification	N0	N1-N2	N3	NA	NA
Pack years	0-59	59-179	180 and above		
Performance status	0-1	2-3	NA	NA	4

Figura 37 : grupos de riesgo. Bajo riesgo 0-4 puntos. Riesgo intermedio 5-7 puntos. Alto riesgo >7 puntos. (Tomada de Larsen ¹⁵⁹)

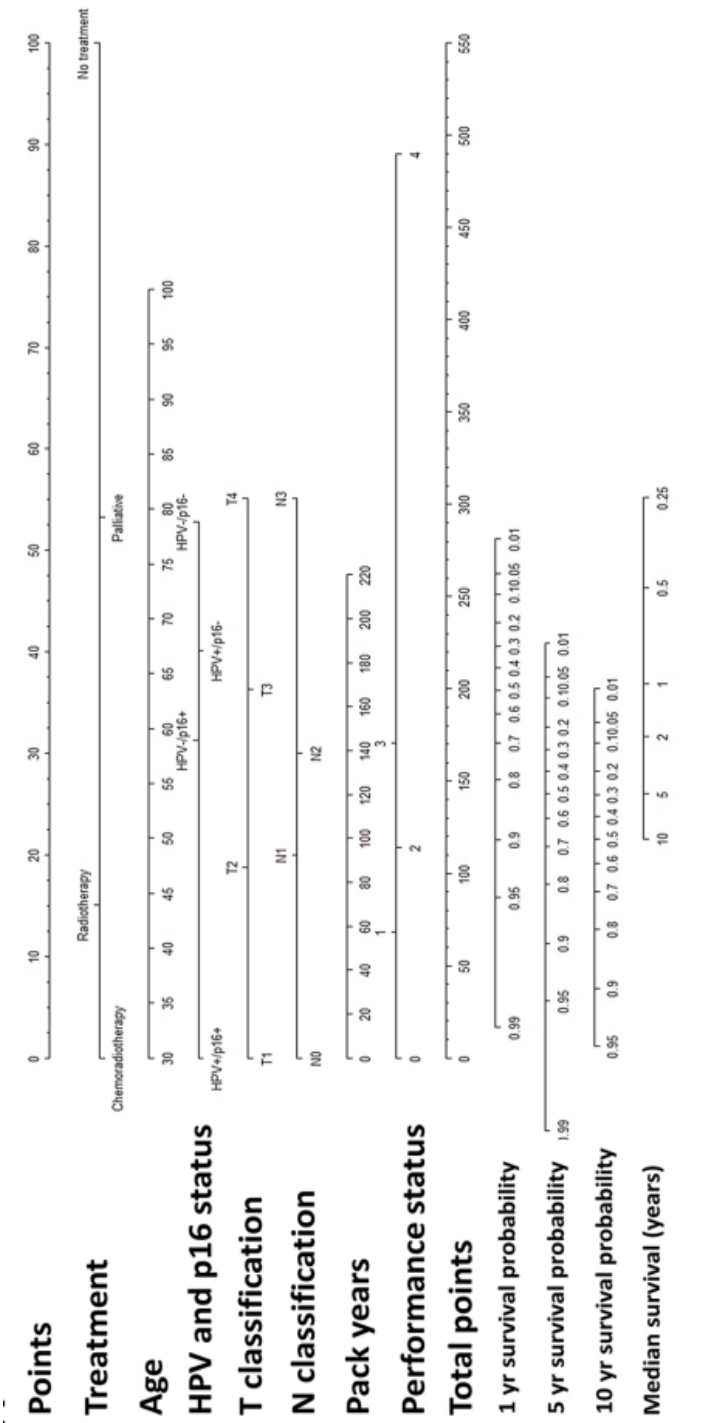


Figura 38: Normograma para la supervivencia global. (Tomada de Larsen ¹⁵⁹)

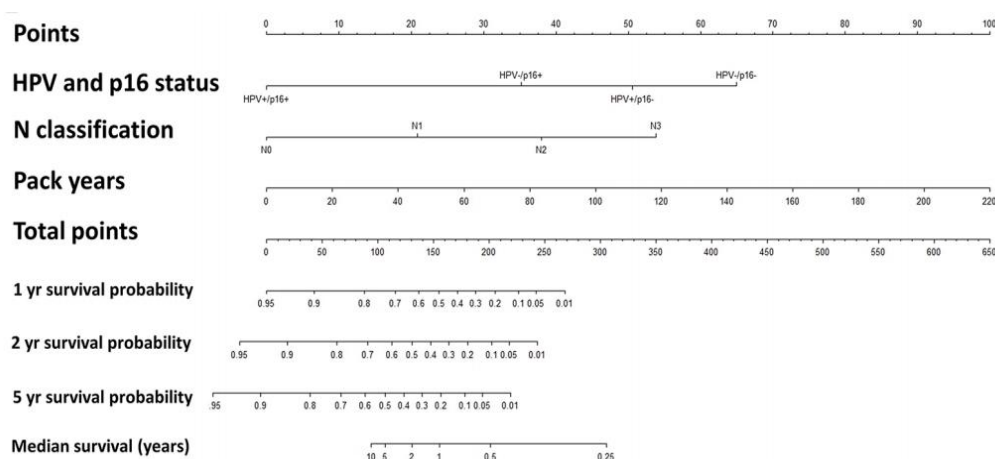


Figura 39: Normograma para la supervivencia libre de enfermedad.

(Tomada de Larsen ¹⁵⁹)

O'Sullivan da un paso más y propone cambiar la actual clasificación de la AJCC para los tumores de orofaringe HPV+ ¹⁶⁰. En su propuesta para la 8ª edición desaparecen los estatus N2a, N2b y N2c para agruparse en N2, y de igual forma los T4a y T4b pasarían a T4. Y el estadio IV quedaría reservado sólo para el status M1.

ICON-S stage classification	T1	T2	T3	T4
N0	I	I	II	III
N1	I	I	II	III
N2	II	II	II	III
N3	III	III	III	III

Figura 40 : Nuevos estadios propuestos por O'Sullivan et al ¹⁶⁰.

También se han publicado estudios donde se definen grupos de riesgo en pacientes tratados con tratamiento quirúrgico para así estratificar la necesidad o no de tratamiento adyuvante.

Haughey et al ¹⁶¹ definió tres grupos de riesgo:

- Estadio I: pT1 o pT2 con ≤ 4 ganglios positivos
- Estadio II: pT1 o pT2 con ≥ 5 ganglios
pT3o pT4 con ≤ 4 ganglios
- Estadio III: pT3 o pT4 con ≥ 5 ganglios

La supervivencia global a 5 años fue de 90%, 84% y 48% respectivamente.

Sinha et al ¹⁶² también objetivó que en los tumores de orofaringe HPV+ tratados con cirugía, la afectación extracapsular ganglionar no era un factor pronóstico de la supervivencia libre de enfermedad, por lo que propone que estos pacientes se podría ofrecer un tratamiento adyuvante con radioterapia exclusiva, frente a la radio-quimioterapia.

Así pues, se puede asegurar que los pacientes HPV+ constituyen un grupo de mejor pronóstico, sobretodo, si no son fumadores ni bebedores.

7. DESINTENSIFICACIÓN DE TRATAMIENTOS

Y una vez identifiquemos a los pacientes HPV+ con mejor pronóstico, podremos ofrecerles un tratamiento menos intensivo, al menos localmente, con menor toxicidad. Hay que tener en cuenta que la mayoría de estos pacientes son jóvenes y vivirán muchos años, por lo que hay que intentar que las secuelas de los tratamientos sean mínimas.

En la actualidad hay en marcha múltiples ensayos fase II y fase III (que se reúnen en la siguiente figura ¹⁶³) que esperamos nos puedan dar respuesta a estas cuestiones:

- ¿podemos administrar fármacos menos tóxicos o esquemas con reducción de dosis?
- ¿podemos reducir dosis de radioterapia o usar fraccionamientos alterados menos tóxicos?
- ¿podemos tratar a este subgrupo de pacientes con cirugías mínimamente invasivas?
- ¿podemos realizar tratamientos adyuvantes menos agresivos?

Trial	Phase	N	Inclusion criteria	Treatment
Chemotherapy de-intensification trials				
RTOG 1016 (NCT01302834)	III	706	T1–2, N2a–3, or T3–4, any N, HPV-positive OPSCC	Cetuximab versus high-dose cisplatin concurrent with accelerated IMRT (70 Gy in 6 weeks)
De-ESCALaTE HPV (NCT01874171)	III	304	Stage III–IVA HPV-positive OPSCC (T3N0–T4N0, T1N1–T4N3). Excludes > N2b, >10 PY	Cetuximab versus high-dose cisplatin concurrent with RT (70 Gy)
TROG 12.01 (NCT01855451)	III	200	Stage III (excluding T1–2, N1) or IV (excluding T4, N3, or M1) HPV-positive OPSCC if ≤10 PY. If >10 PY, only N0–2a	Cetuximab versus weekly cisplatin concurrent with RT (70 Gy) once per week
Radiotherapy de-intensification trials				
NRG HN-002 (NCT02254278)	II	296	T1–2, N1–2b, or T3, N0–2b disease and <10 PY HPV-positive OPC	Reduced-dose IMRT (60 Gy) with/without weekly cisplatin
NCT01530997	II	40	T1–3, N0–2c HPV-positive OPSCC if <10 PY or >5 years of abstinence	IMRT (54–60 Gy) with weekly cisplatin (30 mg/m ²)
ECOG 1308 (NCT01084083)	II	80	Resectable stages IIIA/IIIB and IVA/IVB HPV-positive OPSCC (p16-high or HPV-16 ISH positive)	IC, then response-adapted RT (54 or 66–70 Gy) with cetuximab
The Quarterback Trial (NCT01706939)	III	365	Stage III/IV (M0) HPV-associated OPSCC/unknown primary/nasopharynx. Excludes active smokers/>20 PY	IC with TPF: patients with CR/PR randomly assigned 2:1 to carboplatin with RT (56 versus 70 Gy) per week. Non-responders receive standard RT.
De-intensification of surgery/adjuvant therapy				
ECOG 3311 (NCT01898494)	II	377	Resectable stage III–IVB p16-positive OPSCC	TORS then risk-adapted post-operative treatment (observation/50 versus 60/66 Gy with weekly platinum)
PATHOS trial (NCT02215265)	II/III	242	Resectable T1–T3, N0–2b HPV-positive OPSCC. Excludes active smokers with N2b disease	TORS then re-adapted post-operative treatment (observation/50 versus 60Gy/60 Gy with or without weekly cisplatin)
ADEPT (NCT01687413)	III	500	Transoral resected p16-positive OPSCC (R0 margin), T1–4a, pN positive with ECE	Post-operative adjuvant 60-Gy RT with or without weekly cisplatin
NCT01932697	II	40	P16-positive OPSCC (R0 margin), stage I–IVB. Excludes ≥10 PY or smoking within 5 years	Surgery followed by hyperfractionated IMRT (36 Gy/20 fractions BID) + weekly docetaxel

Figura 41: Ensayos de de-intensificación de tratamiento en pacientes de cabeza y cuello HPV+. (Tomada de ¹⁶³)

VII. *CONCLUSIONES*

1. El 39.4% de los tumores epidermoides de orofaringe han sido HPV+, usando como método de detección de la infección la determinación de la sobreexpresión de la proteína p16 mediante inmunohistoquímica. Esta incidencia se aproxima más a la prevalencia de la infección en países del centro y norte de Europa que a otros países mediterráneos.
2. Destaca en nuestra muestra el alto consumo de tabaco y alcohol, factores de riesgo asociados en la literatura a los tumores HPV-. Estos datos reflejan el alto consumo de alcohol y tabaco en nuestro medio en años recientes.
3. Los pacientes HPV+ son típicamente varones y menores de 60 años. La localización más frecuente es la amígdala, seguido de la base de lengua. Al diagnóstico, los estadios más prevalentes fueron estadios T precoces y N avanzados (N2-N3).
4. La supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y control loco-regional en los pacientes HPV+ ha sido mayor, siendo el estatus HPV+ un factor protector con tendencia a la significación estadística.
5. Otros factores pronósticos independientes de la supervivencia han sido: edad, estadio, T, N e IPA.
6. Nuestro estudio ha podido estar limitado por ser de naturaleza retrospectiva, con un número de pacientes bajo (n=175) y por la alta prevalencia del consumo de tabaco y alcohol. Sin embargo, los resultados son acordes con los publicados en la literatura.
7. La determinación de HPV en la biopsia de todos los tumores orofaríngeos es imperativa actualmente, y así se recomienda en las principales guías de práctica clínica.

VIII. *TABLAS Y ANEXOS*

Tabla 1: Clasificación ECOG

ECOG 0	El paciente se encuentra totalmente asintomático y es capaz de realizar un trabajo y actividades normales de la vida diaria.
ECOG 1	El paciente presenta síntomas que no le impiden realizar su trabajo, ni las actividades de la vida diaria. El paciente sólo permanece en la cama durante las horas de sueño nocturno.
ECOG 2	El paciente no es capaz de desempeñar su trabajo, se encuentra con síntomas que le obligan a permanecer en la cama durante varias horas al día, además de las de la noche, pero que no superan el 50% del día. El individuo satisface la mayoría de sus necesidades pero precisa de ayuda para alguna actividad que antes realizaba como por ejemplo la limpieza de la casa.
ECOG 3	El paciente necesita estar encamado más de la mitad del día por la presencia de síntomas. Necesita ayuda para la mayoría de las actividades de la vida diaria como por ejemplo el vestirse.
ECOG 4	El paciente permanece encamado el 100% del día y necesita ayuda para todas las actividades de la vida diaria, como por ejemplo la higiene corporal, la movilización en la cama e incluso la alimentación.
ECOG 5	El paciente está moribundo o morirá en horas

Tabla 2: Clasificación TNM, 7º edición de la AJCC.**Tumor node metastases (TNM) staging system for cancer of the oropharynx**

Primary tumor (T)			
TX	Primary tumor cannot be assessed		
T0	No evidence of primary tumor		
Tis	Carcinoma in situ		
T1	Tumor 2 cm or less in greatest dimension		
T2	Tumor more than 2 cm but not more than 4 cm in greatest dimension		
T3	Tumor more than 4 cm in greatest dimension or extension to lingual surface of epiglottis		
T4a	Moderately advanced local disease Tumor invades the larynx, extrinsic muscle of tongue, medial pterygoid, hard palate, or mandible*		
T4b	Very advanced local disease Tumor invades lateral pterygoid muscle, pterygoid plates, lateral nasopharynx, or skull base or encases carotid artery		
Regional lymph nodes (N)•			
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed		
N0	No regional lymph node metastasis		
N1	Metastasis in a single ipsilateral lymph node, 3 cm or less in greatest dimension		
N2	Metastasis in a single ipsilateral lymph node, more than 3 cm but not more than 6 cm in greatest dimension, or in multiple ipsilateral lymph nodes, none more than 6 cm in greatest dimension, or in bilateral or contralateral lymph nodes, none more than 6 cm in greatest dimension		
N2a	Metastasis in a single ipsilateral lymph node more than 3 cm but not more than 6 cm in greatest dimension		
N2b	Metastasis in multiple ipsilateral lymph nodes, none more than 6 cm in greatest dimension		
N2c	Metastasis in bilateral or contralateral lymph nodes, none more than 6 cm in greatest dimension		
N3	Metastasis in a lymph node more than 6 cm in greatest dimension		
Distant metastasis (M)			
M0	No distant metastasis		
M1	Distant metastasis		
Anatomic stage/prognostic groups			
Stage 0	Tis	N0	M0
Stage I	T1	N0	M0
Stage II	T2	N0	M0
Stage III	T3	N0	M0
	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
Stage IVA	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4a	N2	M0
Stage IVB	T4b	Any N	M0
	Any T	N3	M0
Stage IVC	Any T	Any N	M1

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vokes, E. E., Agrawal, N. & Seiwert, T. Y. HPV-Associated Head and Neck Cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 107, djv344 (2015).
2. de Martel, C. *et al.* Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol.* 13, 607–615 (2012).
3. Gillison, M. L. *et al.* Eurogin Roadmap: comparative epidemiology of HPV infection and associated cancers of the head and neck and cervix. *Int. J. cancer* 134, 497–507 (2014).
4. de Souza, D. L. B., Bernal Pérez, M. M. & Curado, M. P. Predicted incidence of oral cavity, oropharyngeal, laryngeal, and hypopharyngeal cancer in Spain and implications for cancer control. *Cancer Epidemiol.* 35, 510–514 (2011).
5. Ang, K. K. *et al.* Human Papillomavirus and Survival of Patients with Oropharyngeal Cancer. *N. Engl. J. Med.* 363, 24–35 (2010).
6. de Jong, M. C. *et al.* HPV and high-risk gene expression profiles predict response to chemoradiotherapy in head and neck cancer, independent of clinical factors. *Radiother. Oncol.* 95, 365–370 (2010).
7. Sturgis, E. M. & Ang, K. K. The epidemic of HPV-associated oropharyngeal cancer is here: is it time to change our treatment paradigms? *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* 9, 665–73 (2011).
8. Shiboski, C. H., Schmidt, B. L. & Jordan, R. C. K. Tongue and tonsil carcinoma. *Cancer* 103, 1843–1849 (2005).
9. Lassen, P. *et al.* Effect of HPV-associated p16INK4A expression on response to radiotherapy and survival in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J. Clin. Oncol.* 27, 1992–8 (2009).
10. Lassen, P. The role of Human papillomavirus in head and neck cancer and the impact on radiotherapy outcome. *Radiother. Oncol.* 95, 371–80 (2010).
11. Ringström, E. *et al.* Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin. Cancer Res.* 8, 3187–92 (2002).
12. Mellin, H. *et al.* Human papillomavirus type 16 is episomal and a high viral load may be correlated to better prognosis in tonsillar cancer. *Int. J. cancer* 102, 152–8 (2002).
13. Sankaranarayanan, R., Masuyer, E., Swaminathan, R., Ferlay, J. & Whelan, S. Head and neck cancer: a global perspective on epidemiology and prognosis. *Anticancer Res.* 18, 4779–86
14. Blot, W. J. *et al.* Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.* 48, 3282–7 (1988).
15. Spitz, M. R. Epidemiology and risk factors for head and neck cancer. *Semin. Oncol.* 21, 281–8 (1994).

16. Lewin, F. *et al.* Smoking tobacco, oral snuff, and alcohol in the etiology of squamous cell carcinoma of the head and neck: a population-based case-referent study in Sweden. *Cancer* 82, 1367–75 (1998).
17. Scully, C. Oral cancer aetiopathogenesis; past, present and future aspects. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* 16, e306-11 (2011).
18. Druesne-Pecollo, N. *et al.* Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol-related cancer. *Lancet Oncol.* 10, 173–180 (2009).
19. Kobayashi, I. *et al.* Prevalence of Epstein-Barr virus in oral squamous cell carcinoma. *J. Pathol.* 189, 34–39 (1999).
20. Larsson, P. A. *et al.* Reactivity against herpes simplex virus in patients with head and neck cancer. *Int. J. cancer* 49, 14–8 (1991).
21. Langford, A. *et al.* Human immunodeficiency virus-associated squamous cell carcinomas of the head and neck presenting as oral and primary intraosseous squamous cell carcinomas. *Quintessence Int.* 26, 635–54 (1995).
22. Vaughan, T. L., Stewart, P. A., Davis, S. & Thomas, D. B. Work in dry cleaning and the incidence of cancer of the oral cavity, larynx, and oesophagus. *Occup. Environ. Med.* 54, 692–695 (1997).
23. van der Laan, B. F., Baris, G., Gregor, R. T., Hilgers, F. J. & Balm, A. J. Radiation-induced tumours of the head and neck. *J. Laryngol. Otol.* 109, 346–9 (1995).
24. Newell, G. R., Krementz, E. T. & Roberts, J. D. Excess occurrence of cancer of the oral cavity, lung, and bladder following cancer of the cervix. *Cancer* 36, 2155–8 (1975).
25. Lajer, C. B. & von Buchwald, C. The role of human papillomavirus in head and neck cancer. *APMIS* 118, 510–9 (2010).
26. Löning, T. *et al.* Analysis of oral papillomas, leukoplakias, and invasive carcinomas for human papillomavirus type related DNA. *J. Invest. Dermatol.* 84, 417–20 (1985).
27. Herrero, R. *et al.* Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J. Natl. Cancer Inst.* 95, 1772–83 (2003).
28. Kreimer, A. R., Clifford, G. M., Boyle, P. & Franceschi, S. Human Papillomavirus Types in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas Worldwide: A Systematic Review. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 14, 467–475 (2005).
29. Wennerberg J, Schildt EB, Bladström A, et al. W. H. O. I. monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: vol-ume 90-human papillomaviruses. L. I. A. for R. C. 2007. No Title. in *World Health Organization.IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: vol-ume 90-human papillomaviruses.*

30. Termine, N. *et al.* HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988-2007). *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 19, 1681–90 (2008).
31. Mehanna, H. *et al.* Prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal and nonoropharyngeal head and neck cancer-systematic review and meta-analysis of trends by time and region. *Head Neck* 35, 747–755 (2013).
32. Rodrigo, J. P. *et al.* Time trends in the prevalence of HPV in oropharyngeal squamous cell carcinomas in northern Spain (1990-2009). *Int. J. cancer* 134, 487–92 (2014).
33. Lai, K. *et al.* Differences in survival outcome between oropharyngeal and oral cavity squamous cell carcinoma in relation to HPV status. *J. Oral Pathol. Med.* (2016). doi:10.1111/jop.12535
34. Gillison, M. L. *et al.* Distinct Risk Factor Profiles for Human Papillomavirus Type 16-Positive and Human Papillomavirus Type 16-Negative Head and Neck Cancers. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* 100, 407–420 (2008).
35. Pytynia, K. B., Dahlstrom, K. R. & Sturgis, E. M. Epidemiology of HPV-associated oropharyngeal cancer. *Oral Oncol.* 50, 380–6 (2014).
36. Laco, J. *et al.* The role of high-risk human papillomavirus infection in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma in non-smoking and non-drinking patients: a clinicopathological and molecular study of 46 cases. *Virchows Arch.* 458, 179–87 (2011).
37. de Villiers, E.-M., Fauquet, C., Broker, T. R., Bernard, H.-U. & zur Hausen, H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 324, 17–27 (2004).
38. Palefsky, J. M. & Holly, E. A. Molecular virology and epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 4, 415–28 (1995).
39. Rivera Z, R., Delgado D, J., Painel P, V., Barrero P, R. & Larraín H, a. Mecanismo de infección y transformación neoplásica producido por virus papiloma humano en el epitelio cervical. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 71, 135–140 (2006).
40. Bzhalava, D., Eklund, C. & Dillner, J. International standardization and classification of human papillomavirus types. *Virology* 476, 341–4 (2015).
41. Heck, J. E. *et al.* Sexual behaviours and the risk of head and neck cancers: a pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium. *Int. J. Epidemiol.* 39, 166–81 (2010).
42. Giroglou, T., Florin, L., Schafer, F., Streeck, R. E. & Sapp, M. Human Papillomavirus Infection Requires Cell Surface Heparan Sulfate. *J. Virol.* 75, 1565–1570 (2001).
43. Kirchhausen, T. Clathrin. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 699–727 (2000).

44. Anderson, R. G. Caveolae: where incoming and outgoing messengers meet. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 10909–13 (1993).
45. Nelson, L. M., Rose, R. C. & Moroianu, J. Nuclear Import Strategies of High Risk HPV16 L1 Major Capsid Protein. *J. Biol. Chem.* 277, 23958–23964 (2002).
46. Nakahara, T. *et al.* Modulation of the cell division cycle by human papillomavirus type 18 E4. *J. Virol.* 76, 10914–20 (2002).
47. zur Hausen, H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst.* 92, 690–8 (2000).
48. Middleton, K. *et al.* Organization of human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. *J. Virol.* 77, 10186–201 (2003).
49. Doorbar, J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin. Sci.* 110, (2006).
50. *The Papillomaviruses.* (Springer US, 2007). doi:10.1007/978-0-387-36523-7
51. Palefsky, J. M. Cutaneous and genital HPV-associated lesions in HIV-infected patients. *Clin. Dermatol.* 15, 439–47
52. Vlantis, A. C. Human Papilloma Virus and Oropharyngeal Carcinoma - Lessons from History. *Chin. J. Dent. Res.* 19, 9–16 (2016).
53. Pickard, R. K. L., Xiao, W., Broutian, T. R., He, X. & Gillison, M. L. The Prevalence and Incidence of Oral Human Papillomavirus Infection Among Young Men and Women, Aged 18–30 Years. *Sex. Transm. Dis.* 39, 559–566 (2012).
54. Rintala, m., grenman, s., puranen, m. & syrjanen, s. Natural history of oral papillomavirus infections in spouses: A prospective Finnish HPV Family Study. *J. Clin. Virol.* 35, 89–94 (2006).
55. Louvanto, K., Rautava, J., Syrjänen, K., Grénman, S. & Syrjänen, S. The clearance of oral high-risk human papillomavirus infection is impaired by long-term persistence of cervical human papillomavirus infection. *Clin. Microbiol. Infect.* 20, 1167–1172 (2014).
56. Saini, R., Khim, T. P., Rahman, S. A., Ismail, M. & Tang, T. H. High-risk human papillomavirus in the oral cavity of women with cervical cancer, and their children. *Virol. J.* 7, 131 (2010).
57. D’Souza, G. *et al.* Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N. Engl. J. Med.* 356, 1944–56 (2007).
58. Beachler, D. C. *et al.* Risk factors for oral HPV infection among a high prevalence population of HIV-positive and at-risk HIV-negative adults. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 21, 122–33 (2012).

59. Westra, W. H. Detection of human papillomavirus (HPV) in clinical samples: Evolving methods and strategies for the accurate determination of HPV status of head and neck carcinomas. *Oral Oncol.* 50, 771–779 (2014).
60. Schache, A. G. *et al.* Validation of a novel diagnostic standard in HPV-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Br. J. Cancer* 108, 1332–1339 (2013).
61. Nevins, J. R. The Rb/E2F pathway and cancer. *Hum. Mol. Genet.* 10, 699–703 (2001).
62. Jordan, R. C. *et al.* Validation of Methods for Oropharyngeal Cancer HPV Status Determination in US Cooperative Group Trials. *Am. J. Surg. Pathol.* 36, 945–954 (2012).
63. Götz, C. *et al.* Impact of HPV infection on oral squamous cell carcinoma. *Oncotarget* (2016). doi:10.18632/oncotarget.12501
64. Westra, W. H. The Morphologic Profile of HPV-Related Head and Neck Squamous Carcinoma: Implications for Diagnosis, Prognosis, and Clinical Management. *Head Neck Pathol.* 6, 48–54 (2012).
65. Tandon, S. *et al.* Fine-needle aspiration cytology in a regional head and neck cancer center: comparison with a systematic review and meta-analysis. *Head Neck* 30, 1246–52 (2008).
66. Curtin, H. D. *et al.* Comparison of CT and MR imaging in staging of neck metastases. *Radiology* 207, 123–30 (1998).
67. Kuno, H. *et al.* Evaluation of cartilage invasion by laryngeal and hypopharyngeal squamous cell carcinoma with dual-energy CT. *Radiology* 265, 488–96 (2012).
68. Johnson, J. T. & Branstetter, B. F. PET/CT in head and neck oncology: State-of-the-art 2013. *Laryngoscope* 124, 913–5 (2014).
69. Genden, E. M. *et al.* Transoral robotic resection and reconstruction for head and neck cancer. *Laryngoscope* 121, 1668–74 (2011).
70. Lim, Y. C., Koo, B. S., Lee, J. S., Lim, J.-Y. & Choi, E. C. Distributions of cervical lymph node metastases in oropharyngeal carcinoma: therapeutic implications for the N0 neck. *Laryngoscope* 116, 1148–52 (2006).
71. Maxwell, J. H. *et al.* Extracapsular spread in head and neck carcinoma: impact of site and human papillomavirus status. *Cancer* 119, 3302–8 (2013).
72. Bernier, J. *et al.* Postoperative irradiation with or without concomitant chemotherapy for locally advanced head and neck cancer. *N. Engl. J. Med.* 350, 1945–52 (2004).
73. Cooper, J. S. *et al.* Postoperative concurrent radiotherapy and chemotherapy for high-risk squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N. Engl. J. Med.* 350, 1937–44 (2004).

74. Bernier, J. *et al.* Defining risk levels in locally advanced head and neck cancers: a comparative analysis of concurrent postoperative radiation plus chemotherapy trials of the EORTC (#22931) and RTOG (# 9501). *Head Neck* 27, 843–50 (2005).
75. Mantravadi, R. V, Haas, R. E., Liebner, E. J., Skolnik, E. M. & Applebaum, E. L. Postoperative radiotherapy for persistent tumor at the surgical margin in head and neck cancers. *Laryngoscope* 93, 1337–40 (1983).
76. Ang, K. K. *et al.* Randomized trial addressing risk features and time factors of surgery plus radiotherapy in advanced head-and-neck cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 51, 571–8 (2001).
77. Awwad, H. K. *et al.* Accelerated hyperfractionation (AHF) compared to conventional fractionation (CF) in the postoperative radiotherapy of locally advanced head and neck cancer: influence of proliferation. *Br. J. Cancer* 86, 517–23 (2002).
78. Shah, N., Saunders, M. I. & Dische, S. A pilot study of postoperative CHART and CHARTWEL in head and neck cancer. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol).* 12, 392–6 (2000).
79. Trotti, A., Klotch, D., Endicott, J., Ridley, M. & Greenberg, H. A prospective trial of accelerated radiotherapy in the postoperative treatment of high-risk squamous cell carcinoma of the head and neck. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 26, 13–21 (1993).
80. Pignon, J.-P., le Maître, A., Maillard, E., Bourhis, J. & MACH-NC Collaborative Group. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): an update on 93 randomised trials and 17,346 patients. *Radiother. Oncol.* 92, 4–14 (2009).
81. Hitt, R. *et al.* A randomized phase III trial comparing induction chemotherapy followed by chemoradiotherapy versus chemoradiotherapy alone as treatment of unresectable head and neck cancer. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 25, 216–25 (2014).
82. Cohen, E. E. W. *et al.* Phase III randomized trial of induction chemotherapy in patients with N2 or N3 locally advanced head and neck cancer. *J. Clin. Oncol.* 32, 2735–43 (2014).
83. Domenge, C. *et al.* Randomized trial of neoadjuvant chemotherapy in oropharyngeal carcinoma. French Groupe d'Etude des Tumeurs de la Tête et du Cou (GETTEC). *Br. J. Cancer* 83, 1594–8 (2000).
84. Vermorken, J. B. *et al.* Cisplatin, fluorouracil, and docetaxel in unresectable head and neck cancer. *N. Engl. J. Med.* 357, 1695–704 (2007).
85. Lorch, J. H. *et al.* Induction chemotherapy with cisplatin and fluorouracil alone or in combination with docetaxel in locally advanced squamous-cell cancer of the head and neck: long-term results of the TAX 324 randomised phase 3 trial. *Lancet. Oncol.* 12, 153–9 (2011).

86. Nguyen-Tan, P. F. *et al.* Randomized phase III trial to test accelerated versus standard fractionation in combination with concurrent cisplatin for head and neck carcinomas in the Radiation Therapy Oncology Group 0129 trial: long-term report of efficacy and toxicity. *J. Clin. Oncol.* 32, 3858–66 (2014).
87. Yang, L. X., Douple, E. & Wang, H. J. Irradiation-enhanced binding of carboplatin to DNA. *Int. J. Radiat. Biol.* 68, 609–14 (1995).
88. Posner, M. R. *et al.* Sequential therapy for the locally advanced larynx and hypopharynx cancer subgroup in TAX 324: survival, surgery, and organ preservation. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 20, 921–7 (2009).
89. Bonner, J. A. *et al.* Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N. Engl. J. Med.* 354, 567–78 (2006).
90. Rosenthal, D. I. *et al.* Association of Human Papillomavirus and p16 Status With Outcomes in the IMCL-9815 Phase III Registration Trial for Patients With Locoregionally Advanced Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck Treated With Radiotherapy With or Without C. *J. Clin. Oncol.* 34, 1300–8 (2016).
91. Magrini, S. M. *et al.* Cetuximab and Radiotherapy Versus Cisplatin and Radiotherapy for Locally Advanced Head and Neck Cancer: A Randomized Phase II Trial. *J. Clin. Oncol.* 34, 427–35 (2016).
92. Ang, K. K. *et al.* Randomized Phase III Trial of Concurrent Accelerated Radiation Plus Cisplatin With or Without Cetuximab for Stage III to IV Head and Neck Carcinoma: RTOG 0522. *J. Clin. Oncol.* 32, 2940–2950 (2014).
93. Bourhis, J. *et al.* Hyperfractionated or accelerated radiotherapy in head and neck cancer: a meta-analysis. *Lancet (London, England)* 368, 843–54 (2006).
94. Pignon, J.-P., le Maître, A., Bourhis, J. & MACH-NC Collaborative Group. Meta-Analyses of Chemotherapy in Head and Neck Cancer (MACH-NC): an update. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 69, S112-4 (2007).
95. Fu, K. K. *et al.* A Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) phase III randomized study to compare hyperfractionation and two variants of accelerated fractionation to standard fractionation radiotherapy for head and neck squamous cell carcinomas: first report of RTOG 9003. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 48, 7–16 (2000).
96. Lyhne, N. M. *et al.* The DAHANCA 6 randomized trial: Effect of 6 vs 5 weekly fractions of radiotherapy in patients with glottic squamous cell carcinoma. *Radiother. Oncol.* 117, 91–8 (2015).
97. Skladowski, K. *et al.* Continuous accelerated 7-days-a-week radiotherapy for head-and-neck cancer: long-term results of phase III clinical trial. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 66, 706–13 (2006).
98. Brizel, D. M. *et al.* Hyperfractionated irradiation with or without concurrent chemotherapy for locally advanced head and neck cancer. *N. Engl. J. Med.* 338,

- 1798–804 (1998).
99. Mortensen, H. R., Jensen, K., Aksglæde, K., Behrens, M. & Grau, C. Late dysphagia after IMRT for head and neck cancer and correlation with dose-volume parameters. *Radiother. Oncol.* 107, 288–94 (2013).
 100. Salama, J. K. *et al.* Clinical practice guidance for radiotherapy planning after induction chemotherapy in locoregionally advanced head-and-neck cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 75, 725–33 (2009).
 101. Sher, D. J. *et al.* Relationship between radiation treatment time and overall survival after induction chemotherapy for locally advanced head-and-neck carcinoma: a subset analysis of TAX 324. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 81, e813-8 (2011).
 102. Carvalho, A. L., Nishimoto, I. N., Califano, J. A. & Kowalski, L. P. Trends in incidence and prognosis for head and neck cancer in the United States: a site-specific analysis of the SEER database. *Int. J. cancer* 114, 806–16 (2005).
 103. Chera, B. S. *et al.* Definitive radiation therapy for squamous cell carcinoma of the soft palate. *Head Neck* 30, 1114–9 (2008).
 104. Mendenhall, W. M. *et al.* Definitive radiotherapy for tonsillar squamous cell carcinoma. *Am. J. Clin. Oncol.* 29, 290–7 (2006).
 105. Mellin, H., Friesland, S., Lewensohn, R., Dalianis, T. & Munck-Wikland, E. Human papillomavirus (HPV) DNA in tonsillar cancer: clinical correlates, risk of relapse, and survival. *Int. J. cancer* 89, 300–4 (2000).
 106. Gillison, M. L. *et al.* Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J. Natl. Cancer Inst.* 92, 709–20 (2000).
 107. Schwartz, S. R., Yueh, B., McDougall, J. K., Daling, J. R. & Schwartz, S. M. Human papillomavirus infection and survival in oral squamous cell cancer: a population-based study. *Otolaryngol. Head. Neck Surg.* 125, 1–9 (2001).
 108. Lindel, K., Beer, K. T., Laissue, J., Greiner, R. H. & Aebersold, D. M. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: a radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer* 92, 805–13 (2001).
 109. Weinberger, P. M. *et al.* Molecular Classification Identifies a Subset of Human Papillomavirus-Associated Oropharyngeal Cancers With Favorable Prognosis. *J. Clin. Oncol.* 24, 736–747 (2006).
 110. Ragin, C. C. R. & Taioli, E. Survival of squamous cell carcinoma of the head and neck in relation to human papillomavirus infection: review and meta-analysis. *Int. J. cancer* 121, 1813–20 (2007).
 111. Fakhry, C. *et al.* Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J. Natl. Cancer Inst.* 100, 261–9 (2008).

112. Rischin, D. *et al.* Prognostic significance of p16INK4A and human papillomavirus in patients with oropharyngeal cancer treated on TROG 02.02 phase III trial. *J. Clin. Oncol.* 28, 4142–8 (2010).
113. Posner, M. R. *et al.* Survival and human papillomavirus in oropharynx cancer in TAX 324: a subset analysis from an international phase III trial. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 22, 1071–7 (2011).
114. Lassen, P. *et al.* The influence of HPV-associated p16-expression on accelerated fractionated radiotherapy in head and neck cancer: evaluation of the randomised DAHANCA 6&7 trial. *Radiother. Oncol.* 100, 49–55 (2011).
115. Ritoe, S. C. *et al.* Value of routine follow-up for patients cured of laryngeal carcinoma. *Cancer* 101, 1382–9 (2004).
116. Berrington de González, A. *et al.* Projected cancer risks from computed tomographic scans performed in the United States in 2007. *Arch. Intern. Med.* 169, 2071–7 (2009).
117. Morris, L. G. T., Sikora, A. G., Patel, S. G., Hayes, R. B. & Ganly, I. Second primary cancers after an index head and neck cancer: subsite-specific trends in the era of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer. *J. Clin. Oncol.* 29, 739–46 (2011).
118. Chuang, S.-C. *et al.* Risk of second primary cancer among patients with head and neck cancers: A pooled analysis of 13 cancer registries. *Int. J. cancer* 123, 2390–6 (2008).
119. Pearce, N. E. *et al.* IARC Monographs: 40 Years of Evaluating Carcinogenic Hazards to Humans. *Environ. Health Perspect.* 123, 507–14 (2015).
120. Chaturvedi, A. K. Beyond cervical cancer: burden of other HPV-related cancers among men and women. *J. Adolesc. Health* 46, S20–6 (2010).
121. Chung, C. H. & Gillison, M. L. Human papillomavirus in head and neck cancer: its role in pathogenesis and clinical implications. *Clin. Cancer Res.* 15, 6758–62 (2009).
122. Chaturvedi, A. K. *et al.* Human Papillomavirus and Rising Oropharyngeal Cancer Incidence in the United States. *J. Clin. Oncol.* 29, 4294–4301 (2011).
123. de Oña, M. *et al.* Prevalence, evolution, and features of infection with human papillomavirus: a 15-year longitudinal study of routine screening of a women population in the north of Spain. *J. Med. Virol.* 82, 597–604 (2010).
124. Garcia-García, J. A. *et al.* Distribution of human papillomavirus types in women from Valencia, Spain, with abnormal cytology. *Acta Cytol.* 54, 159–64
125. de Souza, D. L. B., Curado, M. P., Bernal, M. M. & Jerez Roig, J. What is the future burden of HPV-related cancers in Spain? *Clin. Transl. Oncol.* 16, 213–219 (2014).

126. Näsman, A. *et al.* Incidence of human papillomavirus (HPV) positive tonsillar carcinoma in Stockholm, Sweden: an epidemic of viral-induced carcinoma? *Int. J. cancer* 125, 362–6 (2009).
127. Anantharaman, D. *et al.* Geographic heterogeneity in the prevalence of human papillomavirus in head and neck cancer. *Int. J. Cancer* (2017). doi:10.1002/ijc.30608
128. Castellsagué, X. *et al.* HPV Involvement in Head and Neck Cancers: Comprehensive Assessment of Biomarkers in 3680 Patients. *J. Natl. Cancer Inst.* 108, djv403 (2016).
129. Markowitz, L. E. *et al.* Human papillomavirus vaccination: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR. Recomm. reports Morb. Mortal. Wkly. report. Recomm. reports* 63, 1–30 (2014).
130. Saslow, D. *et al.* American Cancer Society Guideline for human papillomavirus (HPV) vaccine use to prevent cervical cancer and its precursors. *CA. Cancer J. Clin.* 57, 7–28
131. Berenson, A. B. & Croisant, S. Early sexual debut warrants HPV vaccination at an earlier age. *Vaccine* (2017). doi:10.1016/j.vaccine.2017.01.057
132. FUTURE II Study Group. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N. Engl. J. Med.* 356, 1915–27 (2007).
133. Garland, S. M. *et al.* Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. *N. Engl. J. Med.* 356, 1928–43 (2007).
134. Joura, E. A. *et al.* A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *N. Engl. J. Med.* 372, 711–23 (2015).
135. Paavonen, J. *et al.* Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women. *Lancet (London, England)* 374, 301–14 (2009).
136. Herrero, R. *et al.* Reduced prevalence of oral human papillomavirus (HPV) 4 years after bivalent HPV vaccination in a randomized clinical trial in Costa Rica. *PLoS One* 8, e68329 (2013).
137. Gillison, M. L. *et al.* Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009–2010. *JAMA* 307, 693–703 (2012).
138. Reisinger, K. S. *et al.* Safety and persistent immunogenicity of a quadrivalent human papillomavirus types 6, 11, 16, 18 L1 virus-like particle vaccine in preadolescents and adolescents: a randomized controlled trial. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 26, 201–9 (2007).
139. Giuliano, A. R. *et al.* Efficacy of Quadrivalent HPV Vaccine against HPV Infection and Disease in Males. *N. Engl. J. Med.* 364, 401–411 (2011).

140. Graham, D. M. *et al.* A cost-effectiveness analysis of human papillomavirus vaccination of boys for the prevention of oropharyngeal cancer. *Cancer* 121, 1785–92 (2015).
141. Ndiaye, C. *et al.* HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16 INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 15, 1319–1331 (2014).
142. D’Souza, G. *et al.* Differences in the Prevalence of Human Papillomavirus (HPV) in Head and Neck Squamous Cell Cancers by Sex, Race, Anatomic Tumor Site, and HPV Detection Method. *JAMA Oncol.* 3, 169 (2017).
143. Nichols, A. C. *et al.* HPV-16 infection predicts treatment outcome in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Otolaryngol. Neck Surg.* 140, 228–234 (2009).
144. Hafkamp, H. C. *et al.* Marked differences in survival rate between smokers and nonsmokers with HPV 16-associated tonsillar carcinomas. *Int. J. cancer* 122, 2656–64 (2008).
145. Gillison, M. L. *et al.* Tobacco Smoking and Increased Risk of Death and Progression for Patients With p16-Positive and p16-Negative Oropharyngeal Cancer. *J. Clin. Oncol.* 30, 2102–2111 (2012).
146. Hong, A. M. *et al.* Human papillomavirus, smoking status and outcomes in tonsillar squamous cell carcinoma. *Int. J. Cancer* 132, 2748–2754 (2013).
147. Liskamp, C. P. *et al.* Adverse effect of smoking on prognosis in human papillomavirus-associated oropharyngeal carcinoma. *Head Neck* 38, 1780–1787 (2016).
148. Overgaard, J. Hypoxic Radiosensitization: Adored and Ignored. *J. Clin. Oncol.* 25, 4066–4074 (2007).
149. Overgaard, J. *et al.* A randomized double-blind phase III study of nimorazole as a hypoxic radiosensitizer of primary radiotherapy in supraglottic larynx and pharynx carcinoma. Results of the Danish Head and Neck Cancer Study (DAHANCA) Protocol 5-85. *Radiother. Oncol.* 46, 135–46 (1998).
150. Lassen, P. *et al.* HPV-associated p16-expression and response to hypoxic modification of radiotherapy in head and neck cancer. *Radiother. Oncol.* 94, 30–35 (2010).
151. Mortensen, L. S. *et al.* FAZA PET/CT hypoxia imaging in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck treated with radiotherapy: Results from the DAHANCA 24 trial. *Radiother. Oncol.* 105, 14–20 (2012).
152. Toustrup, K. *et al.* Gene expression classifier predicts for hypoxic modification of radiotherapy with nimorazole in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Radiother. Oncol.* 102, 122–129 (2012).
153. Sørensen, B. S. *et al.* Radiosensitivity and effect of hypoxia in HPV positive head

- and neck cancer cells. *Radiother. Oncol.* 108, 500–505 (2013).
154. Arnsón, Y., Shoenfeld, Y. & Amital, H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J. Autoimmun.* 34, J258-65 (2010).
 155. Prokopczyk, B., Sinha, I., Trushin, N., Freeman, W. M. & El-Bayoumy, K. Gene expression profiles in HPV-immortalized human cervical cells treated with the nicotine-derived carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Chem. Biol. Interact.* 177, 173–180 (2009).
 156. Raña, P., Pérez-Ríos, M., Santiago-Pérez, M. I. & Crujeiras, R. M. Impact of a comprehensive law on the prevalence of tobacco consumption in Spain: evaluation of different scenarios. *Public Health* 138, 41–49 (2016).
 157. Huang, S. H. *et al.* Refining American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control TNM Stage and Prognostic Groups for Human Papillomavirus-Related Oropharyngeal Carcinomas. *J. Clin. Oncol.* 33, 836–845 (2015).
 158. Dahlstrom, K. R., Garden, A. S., William, W. N., Lim, M. Y. & Sturgis, E. M. Proposed Staging System for Patients With HPV-Related Oropharyngeal Cancer Based on Nasopharyngeal Cancer N Categories. *J. Clin. Oncol.* 34, 1848–1854 (2016).
 159. Larsen, C. G. *et al.* Novel nomograms for survival and progression in HPV+ and HPV- oropharyngeal cancer: a population-based study of 1,542 consecutive patients. *Oncotarget* 7, 71761–71772 (2016).
 160. O’Sullivan, B. *et al.* Development and validation of a staging system for HPV-related oropharyngeal cancer by the International Collaboration on Oropharyngeal cancer Network for Staging (ICON-S): a multicentre cohort study. *Lancet. Oncol.* 17, 440–51 (2016).
 161. Haughey, B. H. *et al.* Pathology-based staging for HPV-positive squamous carcinoma of the oropharynx. *Oral Oncol.* 62, 11–19 (2016).
 162. Sinha, P., Lewis, J. S., Piccirillo, J. F., Kallogjeri, D. & Haughey, B. H. Extracapsular spread and adjuvant therapy in human papillomavirus-related, p16-positive oropharyngeal carcinoma. *Cancer* 118, 3519–30 (2012).
 163. Kelly, J. R., Husain, Z. A. & Burtneß, B. Treatment de-intensification strategies for head and neck cancer. *Eur. J. Cancer* 68, 125–133 (2016).